

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de biologie



MÉMOIRE

Présenté par

BENBEKHTI Bilal

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Biologie

Option : Biologie de la nutrition

Thème

Contribution à l'étude de la composition de l'écorce d'orange

Soutenu le, devant le jury composé de :

Président	Dr MALTI Nassima Amel	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
Encadrant	Dr DIDI-BENKALFAT Amel	Maitre de conférences	Université de Tlemcen
Examineur	Dr BERROUKECHE Farid	Maitre de conférences	Université de Béchar

Année universitaire 2021/2022

REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, je remercie Allah, tout puissant et miséricordieux qui m'a donné le courage, la volonté et la patience durant toute la période des études et qui m'a donné la force pour dépasser toutes les difficultés et mener à bien le présent travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Madame **DIDI-BENKALFAT Amel**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, pour avoir accepté la charge de m'encadrer malgré ses lourdes responsabilités, d'avoir pris le temps de partager avec grand plaisir son expérience, aussi pour son dynamisme, sa confiance, son soutien, sa disponibilité et ses précieux conseils qui m'ont permis à bien mener ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Madame **MALTI Nassima Amel**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider ce jury. Qu'elle trouve ici l'assurance de ma respectueuse gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **BERROUKECHE Farid**, Maître de conférences à l'université de Béchar, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier l'honorable directeur de laboratoire des technologies de séparation et de purification, Professeur Mohamed Amine **DIDI** qui m'a permis d'élaborer mes recherches dans les meilleures conditions et Madame La doyenne, Professeur **MOKHTARI SOULIMANE Nassima Amel** qui m'a permis d'accéder au laboratoire pédagogique.

Je tiens à remercier toute l'équipe du laboratoire des technologies de séparation et de purification, particulièrement **Wafaa et Samira** pour leurs aides et leurs sympathies.

Je tiens à remercier mes amis (es) : **Amine, Chakib, Ghouti, Samir, Abdelghani, Imad, Yacine, Mortada, Yassine, Sefwan et Abdelkader** ainsi que **Zineb et Wissem** pour leur disponibilité, leur dévouement, leur bonne humeur et leurs conseils de tous les jours.

Enfin j'adresse mes plus sincères remerciements à toutes les personnes qui ont apporté leur aide, leur soutien et leur collaboration ; de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes chers parents sur qui j'ai pu compter et me ressourcer d'affection et de bénédiction durant toute ma vie ;

A toutes les personnes qui me sont chères ;

A mes chers frères, ma chère sœur et belle-sœur qui m'ont beaucoup soutenu et encouragé ;

A mes chers camarades de la promotion de biologie, année 2021-2022.

BENBEKHTI Bilal

يعتبر البرتقال من الفاكهة التي يستهلكها الجزائريون على نطاق واسع سواء على شكلها الطازج أو بعد التصنيع، حيث يتم التخلص من قشرتها بكميات كبيرة. الهدف من دراستنا هو المساهمة بتقييم القيمة الغذائية للحاء (فحص الايضات الأولية) والقوة المضادة للأكسدة في الايضات الثانوية.

تم تحديد محتوى الماء، والتحليل الكيميائي النباتية، وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، والاختبارات الكمية: تحديد المستقلبات الأولية، وتحديد البوليفينول الإجمالي وقوة مضادات الأكسدة وفقاً للبروتوكولات التجريبية المعدلة على المادة الجافة و / أو المستخلص الإيثانولي والمائي لحاء الحمضيات الصينية من صنف طومسون.

النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن وجود مركبات الفلافونويد والتانينز والكومارين والستيرول والتربينات والسكريات المختزلة والصمغ والنشا والقلويدات والبروتينات وغياب الأنثوسيانين والسابونوزيدات والكينون والأنثراكينون.

محتوى الرطوبة والسكريات الكلية والبروتينات والدهون موجودة بنسب مئوية $6.35 \pm 0.5\%$ ؛ $9.6 \pm 0.2\%$ ؛ $8.75 \pm 15.0\%$ ؛ $2.64 \pm 0.36\%$ على التوالي. إجمالي البوليفينول موجود عند مستوى 0.05 ± 38.4 مغ و 0.01 ± 20.2 مغ ما يقابل حمض الغاليك/ غ من المادة الجافة في المستخلص المائي والمستخلص الإيثانولي على التوالي، والتي تكون قوتها المضادة للأكسدة مساوية نسبياً لقوة حمض الأسكوربيك. أظهرت الدراسة الإحصائية لنتائجنا وجود علاقة جيدة جداً بين نشاط الاحتجاز الجذري لـ DPPH ومحتوى البوليفينول الكلي للحاء ($R^2 = 0.730$).

يشير كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إلى وجود مركبات من نوع الفلافونويد وحمض الفينول والكشف عن لوحة CCM بواسطة DPPH أن فئة الفلافون وجليكوسيدات الفلافانول لديها أفضل نشاط مضاد للأكسدة.

تظهر نتائجنا أن قشر البرتقال هو إمكانية واعدة للغاية لاستخدامه كبقايا غنية جداً بالجزئيات النشطة بيولوجياً ذات القيمة الغذائية الملحوظة التي يمكن استخدامها في مجالات الأغذية الزراعية أو الأدوية أو مستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية: *Citrus sinensis*، الحاء، التحليل الكيميائي النباتي، البوليفينول، CCM، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

L'orange est un fruit largement consommé par la population algérienne soit sous sa forme frais ou après transformation, où l'écorce est jetée en grande quantité. L'objectif de notre étude est la contribution à l'évaluation de la valeur nutritionnelle de l'écorce (dosage des métabolites primaires) et le pouvoir antioxydant de ses métabolites secondaires.

La détermination de la teneur en eau, les tests phytochimiques, la chromatographie sur couche mince et les tests quantitatifs : le dosage des métabolites primaires, le dosage des polyphénols totaux et le pouvoir antioxydant selon des protocoles expérimentaux adaptés ont été réalisés sur la matière sèche et /ou l'extrait éthanolique et aqueux de l'écorce de *Citrus sinensis* de la variété Thomson navel.

Les résultats obtenus révèlent la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des stérols et terpènes, des sucres réducteurs, des mucilages, de l'amidon, des alcaloïdes, des protéines et l'absence des anthocyanes, saponosides, quinones et anthraquinones.

Le taux d'humidité, les sucres totaux, les protéines et les lipides sont présents à des pourcentages de $6,35 \pm 0,5 \%$; $9,6 \pm 0,2\%$; $8,75 \pm 0,15\%$; $2,64 \pm 0,36\%$, respectivement. Les polyphénols totaux sont présents à une teneur de $38,4 \pm 0,05\text{mg}$ et $20,2 \pm 0,01\text{mg}$ EAG/gde matière sèche dans l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique, respectivement, dont le pouvoir antioxydant est relativement égale à celle de l'acide ascorbique. L'étude statistique de nos résultats a montré une très bonne corrélation entre l'activité de piégeage du radical DPPH et la teneur en polyphénols totaux de l'écorce ($R^2= 0,730$).

La chromatographie sur couche mince (CCM) indique la présence des composés de types flavonoïdes et de l'acide phénolique et la révélation de la plaque CCM par le DPPH a montré que la classe des flavones et flavanols glycosides possède la meilleure activité antioxydante.

Nos résultats montrent que les écorces d'oranges ont un potentiel très prometteur à valoriser en tant que résidu très riche en molécules bioactives avec une valeur nutritionnelle marqué pouvant l'utiliser dans les domaines agroalimentaires, pharmaceutique ou cosmétique.

Mots clés : *Citrus sinensis*, écorce, test phytochimique, polyphénols, CCM, activité antioxydante.

Abstract

Orange is a fruit widely consumed by the Algerian population either in its fresh form or after processing, where the bark is discarded in large quantities. The purpose of our study is the assessment of the nutritional value of the bark (determination of primary metabolites) and the antioxidant power of its secondary metabolites.

Determination of water content, phytochemical tests, thin-layer chromatography and quantitative tests: determination of primary metabolites, determination of total polyphenols and the antioxidant power according to suitable experimental protocols have been achieved on the dry matter and/or the ethanolic and aqueous extract of the bark of *Citrus sinensis* of the variety Thomson navel.

The results obtained reveal the presence of flavonoids, tannins, coumarines, sterols and terpenes, reducing sugars, mucilages, starch, alkaloids, proteins and absence of anthocyanins, saponosides, quinones and anthraquinones.

Moisture content, total sugars, proteins and lipids are present at percentages of $6.35 \pm 0.5\%$; $9.6 \pm 0.2\%$; $8.75 \pm 0.15\%$; $2.64 \pm 0.36\%$, respectively. Total polyphenols are present at $38.4 \pm 0.05\text{mg}$ and $20.2 \pm 0.01\text{mg GAE/g}$ of dry matter in aqueous extract and ethanolic extract, respectively, whose antioxidant power is relatively equal to that of ascorbic acid. The statistical study of our results showed a very good correlation between the trapping activity of the radical DPPH and the total polyphenols content of the bark ($R^2= 0.730$).

Thin Layer Chromatography (TLC) indicates the presence of flavonoid-type compounds and phenolic acid and the revelation of the CCM plate by DPPH showed that the flavones flavanols glycosides class has the best antioxidant activity.

Our results show that orange peel is a very promising potential to be used as a residue very rich in bioactive molecules with a marked nutritional value that can be used in food, pharmaceutical or cosmetic fields.

Keywords: *Citrus sinensis*, peel, chemical composition, phytochemical test, polyphenols, TLC, antioxidant activity.

Table des matières

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Métabolites secondaires	
I. Métabolites secondaires	3
I.1 Composées phénoliques	3
I.1.1 Acides phénoliques	3
I.1.2 Flavonoïdes	4
I.1.3 Tanins	6
I.1.4 Quinones	7
I.1.5 Coumarines	8
I.1.6 Anthocyanes	8
I.2 Saponines	8
I.3 Alcaloïdes.....	9
I.4 Terpènes	10
Chapitre II : L'orange	
II. L'orange	11
II.1 Généralités.....	11
II.2 Description botanique, morphologique et physiologique	11
II.3 Place dans la systématique	12
II.4 Orange douce (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck)	13
II.4.1 Principales variétés de <i>Citrus sinensis</i>	13
II.4.2 Partie de fruit étudiée	13
II.4.2.1 Ecorce d'orange	13
II.4.2.2 Composition chimique de l'écorce d'orange	13
II.4.2.3 Utilisation de l'écorce d'orange	15

Matériels et méthodes

1	Matériel végétale	16
2	Screening phytochimique	17
2.1	Préparation des extraits	17
2.1.1	Extraction éthanolique à chaud	17
2.1.2	Macération à froid	17
2.2	Les tests phytochimiques	17
3	Etude phyto-chimique	24
3.1	Détermination de la teneur en eau	24
3.2	Détermination quantitative des métabolites primaires	24
3.2.1	Dosage des sucres totaux.....	24
3.2.2	Dosage des lipides totaux.....	25
3.2.3	Dosage de l'azote totale et les protéines brutes.....	26
4	Dosage des composés phénoliques	28
4.1	Dosage des polyphénols totaux	28
5	Etude de l'activité antioxydante.....	30
5.1	Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	30
6	La chromatographie sur couche mince	31
7	Etudes statistiques	32

Résultats et discussion

1	Screening phytochimique.....	33
2	Taux de l'humidité	34
3	Métabolites primaires.....	35
4	Dosage des composés phénoliques	36
4.1	Teneur en polyphénols totaux	36
5	Etude de l'activité antioxydante.....	37
5.1	Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	37

5.2	Corrélation entre la teneur en Polyphénols totaux et l'activité antioxydante	40
6	La chromatographie sur couche mince	41
	Conclusion	44
	Références bibliographique	45

Liste des unités et des abréviations

Ø : diamètre.

λ : longueur d'onde.

A_{AR} : activité antiradicalaire.

CHCl₂ : chlorure de méthylène.

Da : Dalton.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EAG : équivalent acide gallique.

FeCl₃ : chlorure ferrique.

HCl : acide chlorhydrique.

HHDP : hexahydroxy diphénique.

I% : pourcentage d'inhibition.

I₂ : diiode.

IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane.

KI : iodure de potassium.

KOH : hydroxyde de potassium.

M : molaire.

MS : matière sèche.

N : normalité.

NaOH : hydroxyde de sodium.

NH₄OH : hydroxyde d'ammonium.

R_f : rapport frontale.

v/v : volume par volume.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique des oranges	12
Tableau 2 : Teneur en composés chimiques pour 100g de l'écorce d'orange.....	14
Tableau 3 : Composition minérale de l'écorce d'orange.....	14
Tableau 4 : Résultats du screening phytochimiques.....	34
Tableau 5 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Citrus sinensis</i> Thomson Navel	36
Tableau 6 : Valeurs d'IC50 des extraits de <i>Citrus sinensis</i>	40
Tableau 7 : Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de l'écorce de <i>Citrus sinensis</i> Thomson Navel.....	43

Listes des figures

Figure 1 : Structure de l'acide Benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B)	4
Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes.....	5
Figure 3 : Structure chimique et classification des flavonoïdes.....	5
Figure 4 : Structure des tanins hydrolysables.	6
Figure 5 : Structure des tanins condensés.....	7
Figure 6 : Structure de 1,4-benzoquinone (A) et 9,10-antraquinone (B).....	7
Figure 7 : Structure de base d'un anthocyane	8
Figure 8 : Structure de la Cocaïne (A) et la morphine (B)	9
Figure 9 : Structure de l'isoprène	10
Figure 10 : Coupe transversale d'une orange.....	12
Figure 11 : Carte représentant l'occupation des sols de la Ferme EPE BELAIDOUNI Med.	16
Figure 12 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur l'extrait éthanolique.	20
Figure 13 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux.	21
Figure 14 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur les deux extraits.....	22
Figure 15 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur la poudre de l'écorce.....	23
Figure 16 : Montage d'une extraction par soxhlet.	26
Figure 17 : Protocole expérimental du dosage des polyphénols totaux	29
Figure 18 : Teneur en métabolites primaires d'écorce de <i>Citrus sinensis</i>	35
Figure 19 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	36
Figure 20 : Réaction du piégeage du radical libre DPPH	37
Figure 21 : Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'acide ascorbique, de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanolique.	39
Figure 22 : Pouvoir antiradicalaire des extraits de l'écorce de <i>Citrus sinensis</i>	40
Figure 23 : Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante.	41
Figure 24 : Chromatographie sur couche mince de différents extraits de l'écorce de " <i>Citrus sinensis</i> Thomson navel.....	43

Introduction

Les agrumes sont l'une des cultures fruitières les plus importantes dans le monde. Leur production mondiale est estimée à plus de 140 millions de tonnes par an, dont 1500 000 tonnes sont produites en Algérie. Cette dernière est classée 19^{ème} au monde et 2^e au sein de l'Union du Maghrébin arabe.

Les agrumes comprennent, les oranges, les pamplemousses, les citrons, etc (FAO,2020). Les oranges représentent plus de la moitié de la production mondiale d'agrumes et sont la variété la plus consommée en raison de leur bon goût, de leur haute valeur nutritionnelle et de leur composition riche en molécules biologiquement actifs (plus de 170 composés phytochimiques) (Wang *et al.*, 2007 ; Ahmad *et Langrish*, 2012). Ils se consomment en dessert (fruits frais), en confiture ou en jus (Carmona *et al.*, 2012).

En effet, la récolte d'agrumes est consacrée à l'industrie du jus. Cependant lors du procédé d'extraction, grandes quantités des déchets sont produites (55 % du poids). Ceux-ci sont composés d'écorce et les pépins et pose d'importants problèmes pour leur élimination. Ainsi, de nouveaux aspects relatifs à l'utilisation de ces sous-produits en tant qu'additifs alimentaires ou en tant que suppléments à haute valeur nutritive ont suscité un grand intérêt (Lagha-Benamrouche *et al.*, 2018).

Des études récentes ont démontré que les écorces d'orange représentent une source de composés bioactifs. Elles sont riches en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques qui sont les composés les plus importants du fait de leurs diverses activités biologiques telles que les activités antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoire et antioxydantes. L'utilisation de ces résidus riches en composés bioactifs peut constituer une plateforme efficace, économique et écologique pour la production ou l'amélioration de produits nutraceutiques (Moulehi *et al.*, 2012 ; Rafiq *et al.*,2018).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de recherche qui porte sur la composition chimique de l'écorce d'orange (*Citrus sinensis* variété Thomson Navel) et pour établir éventuellement la valeur nutritive de ses métabolites primaires et évaluer le pouvoir antioxydant de ses métabolites secondaires. Pour cela nous avons réalisé ce manuscrit qui se subdivise en une partie de synthèse bibliographique contenant un aperçu sur les métabolites secondaires, suivi par des données sur l'orange et son écorce, et une partie expérimentale contenant le matériels et méthodes utilisées et qui englobe les démarches d'extraction, screening phytochimique, chromatographie sur couche mince, dosage des métabolites primaires, dosage des composés phénoliques engendrant l'étude d'activité antioxydante, ensuite les résultats obtenus sont discutés et enfin une conclusion qui englobe les principaux résultats et perspectives vient clore le manuscrit.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Métabolites secondaires

1. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés organiques de faible poids moléculaire synthétisé par les plantes à partir des métabolites primaires (glucides, lipides et acides aminés), sont souvent désignés comme des composés qui n'ont pas de rôle fondamental dans le maintien des processus vitaux des plantes mais ils sont importants pour que la plante interagisse avec son environnement pour s'adapter et se défendre contre les herbivores et les pathogènes. Les métabolites secondaires sont des sources uniques de produits pharmaceutiques, d'additifs alimentaires, d'arômes et de produits biochimiques importants pour l'industrie (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011 ; Naik et al-Khayri, 2016**).

Chez les végétaux et précisément au niveau des plantes supérieures, les métabolites secondaires sont classés en trois grandes familles :

- Les composées phénoliques
- Les terpénoïdes
- Les alcaloïdes (**Merghem, 2009**).

1.1 Composées phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal et sont présents dans tous les fruits et légumes dans toutes les parties de la plante, mais avec des distributions quantitatives variées entre les différents tissus. Plus de 10000 structures ont été identifiées (**Albuquerque et al., 2013**), allant de molécules simples comme les acides phénoliques à des substances hautement polymériques comme les tanins (**Dai & Mumper, 2010**)

Les polyphénols sont des composés antioxydants que l'on retrouve souvent dans nos plats et qui protègent les plantes des agressions extérieures, des phénomènes oxydatifs et des attaques des moisissures (**Menat, 2006**).

1.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés organiques ayant au moins une fonction carboxyle et une fonction hydroxyle phénolique. Les deux groupes de base des acides phénoliques sont les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique, dérivés respectivement des acides benzoïque C6-C1 et cinnamique C6-C3 (**figure 1**) (**Budic-Leto et Lovric., 2002**).

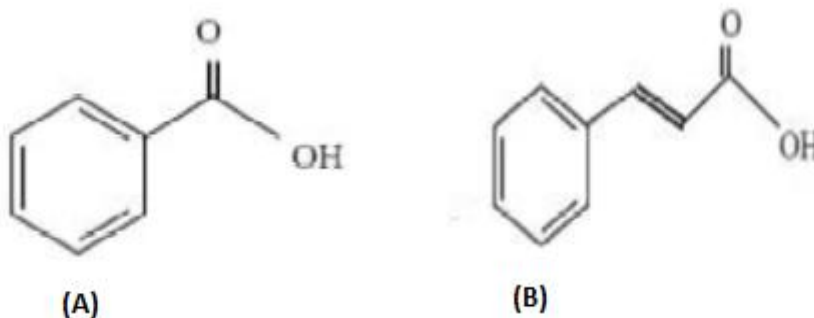


Figure 1 : Structure de l'acide Benzoïque (A) et de l'acide cinnamique (B) (Bruneton, 2009).

1.1.2 Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne un groupe très large de composés naturels de la famille des polyphénols, qui sont considérés comme des pigments quasi universels des plantes et sont généralement responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999 ; Ghestem *et al.*, 2001).

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyrane (Skerget *et al.*, 2005). Leur structure de base est un diphenyle propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), formé par deux noyaux aromatiques (A et B), reliées par un pont de 3 carbones sous forme d'un hétérocycle oxygéné (C) (figure 2,3) (Dacosta, 2003).

Les flavonoïdes possèdent multiples activités biologiques telles que l'activité antioxydante contre la peroxydation lipidique, une anti-inflammatoire et une activité antimicrobienne (Jucá *et al.*, 2020).

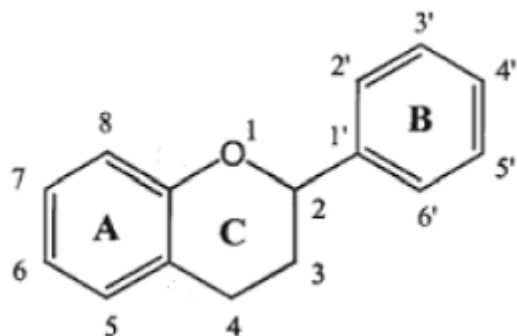


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (Wang *et al.*,2018).

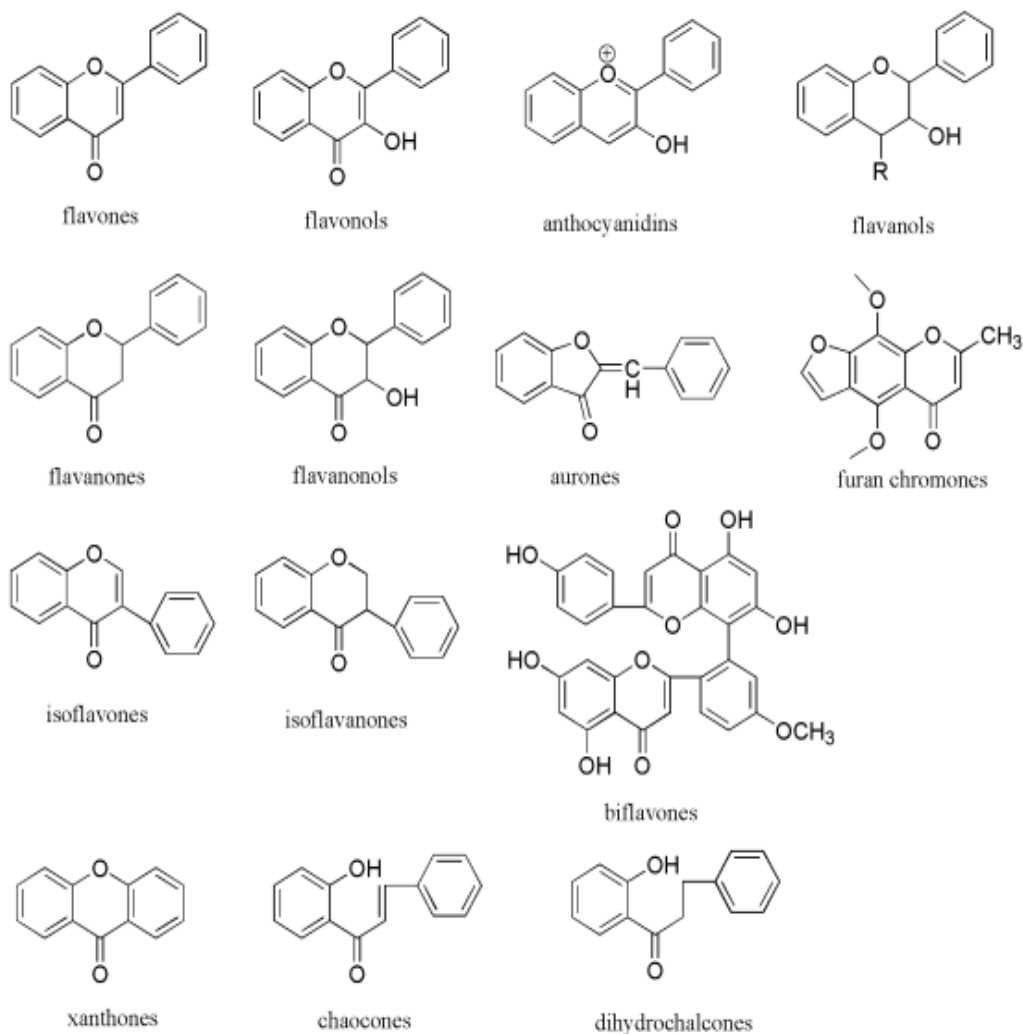


Figure 3 : Structure chimique et classification des flavonoïdes (Wang *et al.*,2018).

1.1.3 Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques polaires de structures variées et de haut poids moléculaire (>3000 Da) et qui sont capables de se lier aux protéines en solution et les précipiter ce qui leur donne la propriété de tanner la peau.

Les tanins sont classés en deux groupes principaux ;

- Les tanins hydrolysables : sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre (généralement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol, soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques (**figure 4**) (**Khanbaba et Ree, 2001 ; Bruneton 2009**).

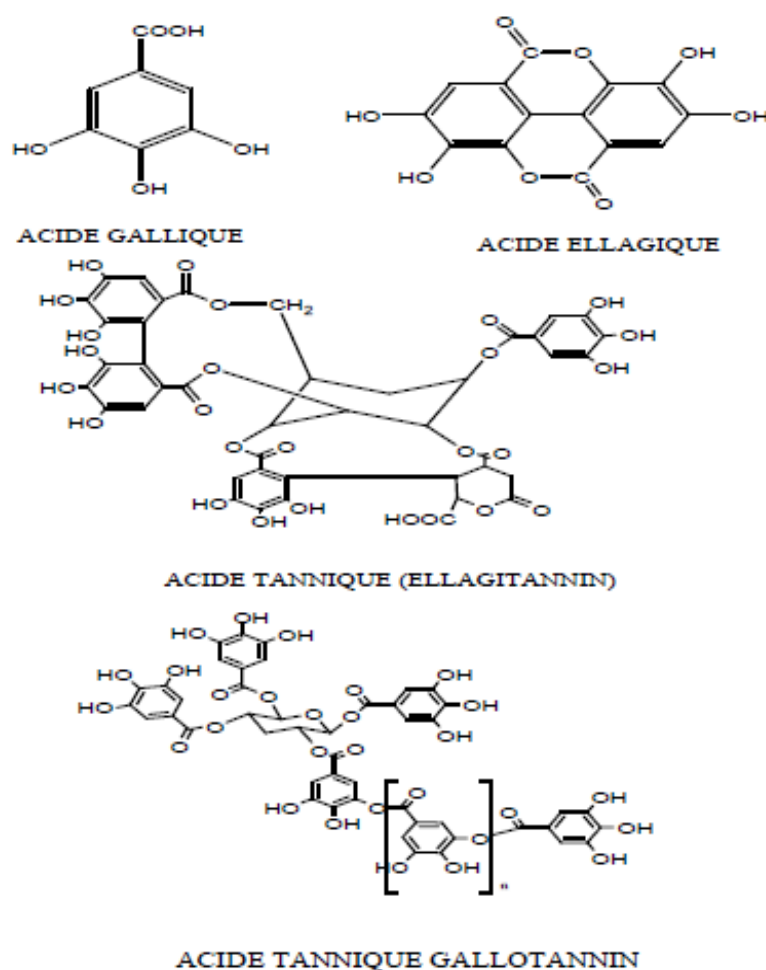


Figure 4 : Structure des tanins hydrolysables (**Bruneton, 1999**).

- Les tanins condensés : appelés proanthocyanidines, se sont des composés qui se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavoniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (**figure 5**) (**Bruneton, 1999**).

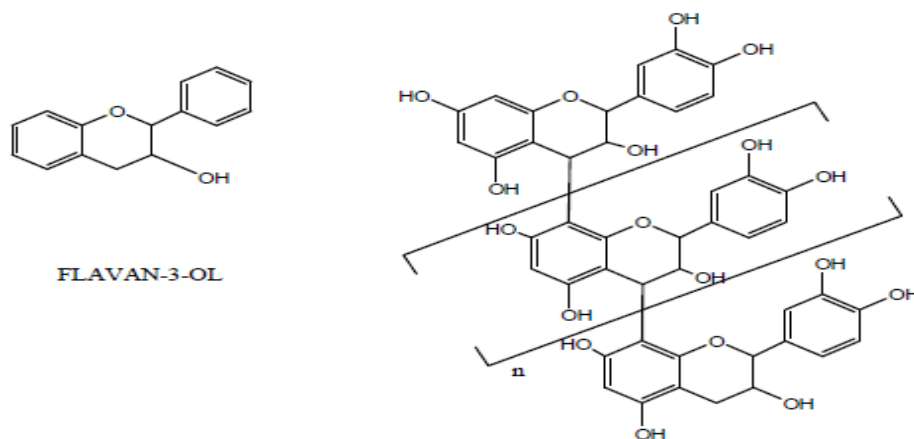


Figure 5 : Structure des tanins condensés (**Bruneton, 1999**).

1.1.4 Quinones

Les quinones sont des composés très réactives et ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et qui sont des composés oxygénés résultant de l'oxydation de dérivées aromatiques caractérisées par un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diénique (paraquinones) ou 1,2-dicétocyclohexa-3,5-diénique (orthoquinones) (**figure 6**) (**Cowan, 1999 ; Bruneton, 2009**).

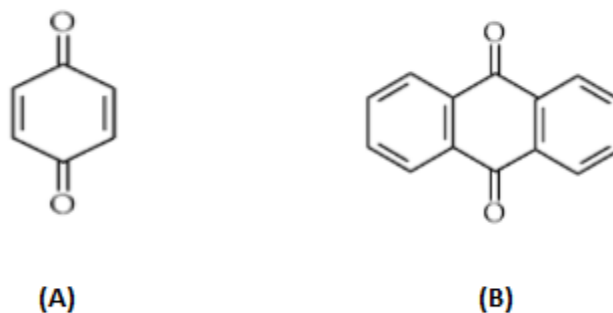


Figure 6 : Structure de 1,4-benzoquinone (A) et 9,10-antraquinone (B) (**Socaciu, 2007**).

1.1.5 Coumarines

Les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et présentes dans de nombreux végétaux (**Bruneton, 2009**).

Les coumarines présentent nombreuses activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, anticoagulante et la capacité anticancéreuse (**Xu et al., 2015**) ainsi que leur capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxyde, donc capable de lutter contre la peroxydation lipidique membranaires (**Anderson et al., 1996**).

1.1.6 Anthocyanes

Les anthocyanes sont des colorants solubles dans l'eau responsables de la coloration rouge à pourpre des plantes, utilisées dans l'industrie alimentaires en tant qu'additifs sûrs et efficaces (**Bagchi et al., 2004**) (**figure 7**). La plus grande spécificité des anthocyanes c'est leur propriété d'améliorer la vision nocturne par la régénération du pourpre rétinien (**Hennebelle et al., 2004**).

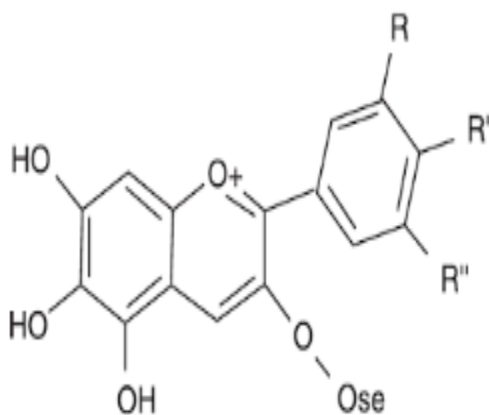


Figure 7 : Structure de base d'un anthocyane (**Samouelian et al., 2009**).

1.2 Saponines

Les saponines sont des composés forment un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux, caractérisés par leurs propriétés tensioactives grâce à leur composition d'aglycones non polaires qui est lié à un ou à plusieurs sucres. La combinaison de ces éléments structuraux polaires et apolaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse (**Vincken et al., 2007** ; **Bruneton, 2009**).

1.3 Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances basiques, azotées avec une structure complexe (**figure 8**) et d'origine naturelle, ces derniers possèdent des activités pharmacologiques significatives bien marquées et ils ont un rôle très important dans la découverte des médicaments (morphine, quinine cocaïne...) (**Omulokoli et al., 1997 ; Bruneton 2009**).

D'un côté biologique, les alcaloïdes possèdent des activités anticancéreuses, analgésiques (morphine), anesthésiques locaux (cocaïne), antibactérienne... (**Bruneton, 2009**).

Les alcaloïdes sont classés en trois grandes classes selon la disponibilité d'un acide aminé comme précurseur direct et la présence d'un atome d'azote dans un hétérocycle (**Aniszewskim, 2007 ; Bruneton, 2009**).

- Les alcaloïdes vrais : dérivent directement des acides aminés et possèdent au moins un hétérocycle de caractère basique dont l'azote est inclus dans l'hétérocycle ;
- Les pseudo-alcaloïdes : représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivées des acides aminés ;
- Les proto-alcaloïdes : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocycle basique, élaborés *in vivo* à partir des acides aminés (**Bruneton, 2009**).

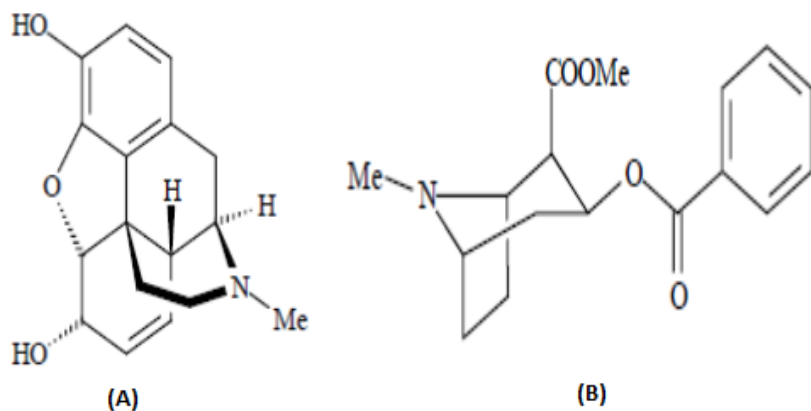


Figure 8 : Structure de la Cocaïne (A) et la morphine (B) (**Hopkins, 2003**)

1.4 Terpènes

Les terpènes sont des composés à structure hydrocarbonée simple contenant des squelettes de carbone de 2-méthylbuta-1,3diène (unités isoprène) (**figure 9**) qui peuvent être réarrangées en structures cycliques. Le nombre d'unités isoprènes est le principal responsable de la diversité structurelle des terpènes. Les hémiterpènes sont formés d'une unité isoprène (C₅), les monoterpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀), les triterpènes (C₃₀) et les tétraterpènes (C₄₀). En effet, les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation et des infections bactériennes (**Christianson, 2008**).

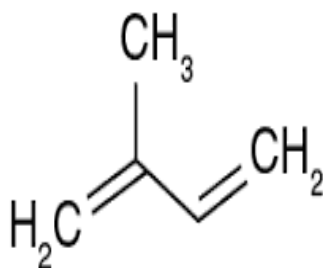


Figure 9 : Structure de l'isoprène (**Morot-Gaudry, 2016**).

Chapitre II : L'orange

2. L'orange

2.1 Généralités

C'est un agrume, fruit comestible de l'oranger un ancien hybride résultant d'un croisement entre le pamplemousse et la mandarine cultivés dans les régions tempérées et chaudes comme les pays méditerranéens, il fait partie de la famille des rutacées avec une forme sphérique à ovale, à peau rouge orangé, épaisse et rugueuse, contenant des huiles essentielles à l'odeur caractéristique.

L'orange est un fruit juteux, sucré et excitant qui contient de la vitamine C. Ce fruit est utilisé pour faire des salades de fruits, des confitures ou pour boire son jus (Milind et Dev, 2012).

2.2 Description botanique, morphologique et physiologique

L'oranger (*Citrus sinensis*) est un arbre au port équilibré harmonieux, planté en pleine terre, ou en pot, atteint rapidement 7 à 8 m est caractérisée par :

- **Fleurs** : blanches net, très parfumées, se développent à partir de fin du printemps (Bachès, 2011) ;
- **Feuilles** : vertes profondes, légèrement ailées (Bachès, 2011) ;
- **Fruits** : varient en forme, et en couleur selon les variétés (Bachès, 2011) ;
- **L'écorce** : comprend deux parties : (Ramful *et al.*, 2010) ;
- L'épicarpe : appelée « flavedo », c'est la couche extérieure colorée contient des flavanones, elle représente 8 à 10% du fruit et contient des glandes à huiles essentielles qui donnent l'odeur particulière à l'orange.
- Le mésocarpe : c'est la couche interne blanche, appelée « albédo », qui a une consistance spongieuse plus ou moins épaisse par rapport à la taille du fruit, ne contient pas de flavanones solubles, et constitue 12 % à 30 % du poids du fruit.
- **La pulpe** : appelée endocarpe, c'est la partie comestible divisée en portions juteuses dont le nombre varie de 9 à 11 ; Elle est constituée par un ensemble de poils charnus ou vésicules renfermant le jus. Elle est généralement plus ou moins acide et sucrée ou amère et elle représente 50 à 80% du fruit (Ramful *et al.*, 2010) ;
- **Les pépins** : se trouvent près du centre de l'orange, ils représentent 0 à 4% du fruit avec une teneur élevée en huiles essentiels (Ramful *et al.*, 2010).

À la surface d'orange particulièrement dans l'écorce se trouvent des glandes remplies d'huiles essentielles. La coupe transversale du fruit permet de distinguer les parties suivantes (**figure 10**).

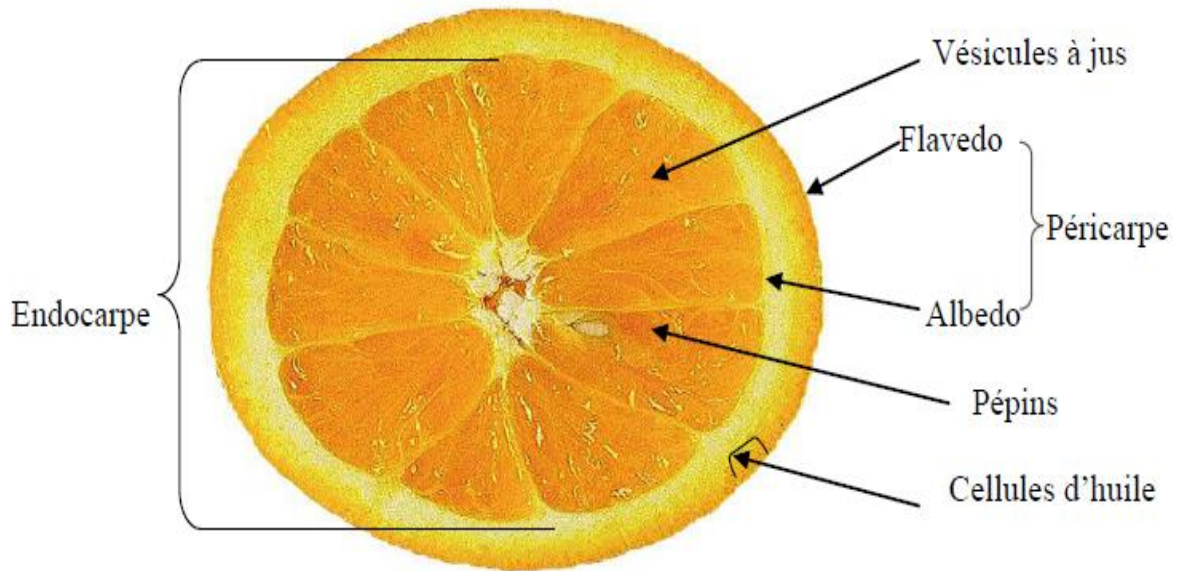


Figure 10 : Coupe transversale d'une orange (Goudeau *et al.*, 2008).

2.3 Place dans la systématique

L'orange prend une position systématique selon le tableau suivant (**tableau 1**).

Tableau 1 : Classification botanique des oranges (Milind *et Dev*, 2012).

Classification	Répartition systématique
Règne	Végétale
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Eudicotes</i>
Sous classe	<i>Sapindales</i>
Ordre	<i>Rosidae</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Sous famille	<i>Aurantoideae</i>
Tribu	<i>Citreae</i>
Sous-tribu	<i>Citrineae</i>
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus sinensis</i>

2.4 Orange douce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)

Au 17^{ème} siècle, son appellation était Orange du Portugal, Orange douce et le plus populaire Orange de la Chine. Depuis, son nom scientifique est devenu *Citrus sinensis* (agrume chinois). Elle représente l'agrume commerciale de *Citrus* la plus importante dans le monde.

2.4.1 Principales variétés de *Citrus sinensis*

Les oranges douces sont les espèces les plus comestibles et servent à l'élaboration des jus. On distingue trois groupes d'oranges (**Fanciullino *et al.*, 2008**) :

- Orange navel : orange de bouche, avec un ombilic bien marqué, moins juteuse, peu sucrée, et peu de pépins ;
- Orange blonde : orange à jus à la peau fine, d'un calibre moyen, sans pépins, très juteuse et parfumée ;
- Orange sanguine : orange à jus, à la couleur de la peau et de la chair plus ou moins rouge et violet, très juteuse, acidulée avec une saveur légèrement musquée.

2.4.2 Partie de fruit étudiée

2.4.2.1 Ecorce d'orange

C'est la partie externe de fruit, présente un rôle de protection et une source des composés phénoliques (**Teh *et al.*, 2014**).

2.4.2.2 Composition chimique de l'écorce d'orange

Les écorces d'orange constituent une source importante en ingrédients nutritionnels (eau, protéines, sucres, lipides et minéraux) et en ingrédients fonctionnels (huiles essentielles, fibres, caroténoïdes, vitamine C, composés phénoliques) (Goulas & Manganaris, 2012)

La composition chimique globale des écorces d'agrumes des principales variétés comestibles (**tableau 2**) est sujette à des variations sous l'influence de la variété d'orange, des facteurs climatiques et environnementaux et de la période de cueillette/récolte d'orange (**Ramful *et al.*, 2010**).

L'écorce d'orange est riche en composés phénoliques tels que les flavonoïdes (**Ma *et al.*, 2009**) et aussi en acides phénoliques (**Abd El-aall *et Halaieish*, 2010**).

Tableau 2 : Teneur en composés chimiques pour 100g de l'écorce d'orange.

Constituants	Quantités (g)	
Fibres	4,64 ^a	6,52 - 47,81 ^b
Glucides	15,01 ^a	1,79 - 9,06 ^b
Protéines	1,79 ^a	4,00 ^c
Lipides	1,66 ^a	9,68 ^d
Eau	3,14 ^a	
Caroténoïdes	0,04 ^a	
Phénols	1,89 ^a	
Vitamines	0,15 ^a	
Huiles essentielles	0,6 ^a	
Minéraux	3,45 ^a	
Vitamine C	0,145 ^a	

^a : (Teuscher *et al.*, 2005) ; ^b : (M'hiri *et al.*, 2017) ; ^c : (Marín *et al.*, 2007) ; ^d : (Anthony C. Cemaluk & Osuji, 2016).

Selon Barros *et al.*, (2012), les écorces d'orange, ainsi que leurs pulpes, sont des sources prometteuses d'éléments minéraux qui peuvent être utilisés pour leurs propriétés sanitaires dans les produits alimentaires. Le tableau ci-dessous (**tableau 3**) résume la composition minérale de l'écorce d'orange.

Tableau 3 : Composition minérale de l'écorce d'orange (Bejar *et al.*, 2011).

Minéraux	Teneur en (mg/100g)
Potassium	220,40
Sodium	312,89
Calcium	1201,21
Magnésium	156,77
Zinc	1,86
Cuivre	1,13
Fer	1,85

2.4.2.3 Utilisation de l'écorce d'orange

Les extraits naturels d'écorce d'orange occupent une place importante dans l'industrie pharmaceutique pour la préparation de médicaments, savons, parfums et autres produits cosmétiques (**Lohrasbi et al., 2010**). La pectine peut être utilisée dans la fabrication de divers suspensions pharmaceutiques (**Piriyaprasarth et Sriamornsak, 2011**), des médicaments de détoxification et anti-diarrhéiques, permet de diminuer le niveau de cholestérol et joue aussi un rôle d'agent anticancéreux (**Fernandez-Lopez et al., 2004**).

En cuisine, l'écorce d'orange peut être utilisée comme des confites, glace, liqueur douce et amère à base d'écorce d'orange (**Bousbia, 2011**). Grâce à son pouvoir épaississant, texturant et son pouvoir gélifiant et stabilisant, la pectine trouvée dans l'écorce d'orange est utilisée en industries agroalimentaires dans l'exploration sur plusieurs formulations. L'association naturel entre les fibres de l'EO et les molécules bioactifs (vitamine C, composés phénoliques...) confère des propriétés fonctionnelles multiples pour les utiliser dans la production des aliments diététiques (**Fernandez-Lopez et al., 2004**).

Il était utilisé dans la médecine traditionnelle pour traiter certaines maladies : constipation, crampes, coliques, bronchite, diarrhée, stress, dépression, hypertension et anxiété (**Milind et Dev, 2012**).

Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire des technologies de séparation et de purification de la faculté des sciences et au niveau du laboratoire pédagogique №3 de la faculté des sciences de la nature et de la vie Tlemcen.

1 Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé "*Citrus sinensis* variété Thomson Navel" a été récolté le mois de Décembre 2021 à partir de la Ferme EPE BELAIDOUNI Med, spécialisé en agrumes et céréales, située au sud-ouest de la commune d'ELFEHOUL, TLEMCCEN. Ses limites géographiques sont les suivants : oued Isser : de l'ouest à l'est –route de wilaya n° 38 au sud (**figure 11**).

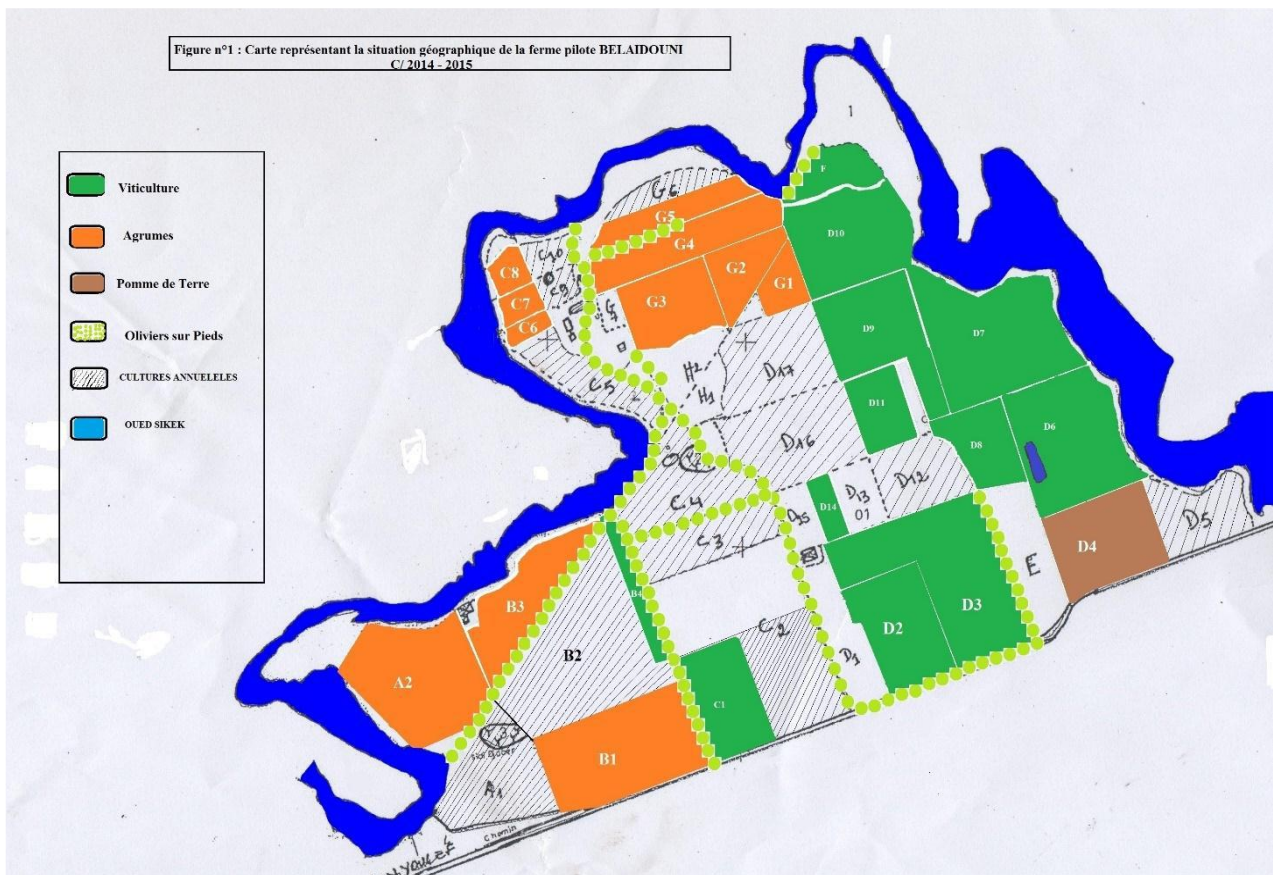


Figure 11 : Carte représentant l'occupation des sols de la Ferme EPE BELAIDOUNI Med.

Chaque échantillon, a été choisi sur la base des critères établis ; les fruits sélectionnés sont mûrs et sains, qui sont par la suite bien lavés à l'eau courante puis coupés pour séparer ces différentes parties.

Les écorces ont été séchées à l'air libre à l'abri de la lumière, puis broyées finement à l'aide d'un mixeur électrique afin d'obtenir des poudres granulométriques fine. Ces dernières sont placées dans des flacons fermés, à l'abri de la lumière, étiquetés et conservés à température ambiante jusqu'au moment de l'extraction.

2 Screening phytochimique

2.1 Préparation des extraits

2.1.1 Extraction éthanolique à chaud

10g de poudre fine obtenu par broyage et séchage de l'écorce d'orange a été mis dans 100 ml d'éthanol. Le mélange a été mis dans un chauffe ballon pendant 1 heure dans une température d'ébullition stable. L'extrait éthanolique est obtenu par filtration sous vide du mélange.

2.1.2 Macération à froid

10 g de matériels végétale (la poudre de l'écorce d'orange) a été mis dans 100 ml d'eau distillée. Le mélange a subi une macération sous agitation, à température ambiante pendant 48 heures. L'extrait aqueux est obtenu par filtration sous vide du macérât.

2.2 Les tests phytochimiques

Les tests phytochimiques sont des tests qualitatifs qui caractérisent les différents groupes chimiques contenus dans les organes végétaux. Ce sont les réactions physico-chimiques qui identifient la présence de composants chimiques.

Les tests phytochimiques sont basés sur :

- Des essais de solubilités.
- Réactions de coloration.
- Réactions de précipitation.

Nos extraits ont subi les tests phytochimiques suivants :

- **Les saponosides** : un volume de 1ml d'extrait est ajouté à 2 ml d'eau chaude, après agitation de 2 minutes, l'apparition d'une mousse persistante, indique la présence des saponines (**Trease et Evans, 1987**).
- **Stérols et triterpènes** : 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer ; après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme. Ensuite mélanger 5 ml

de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique ; ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré ; agiter, puis laisser la solution se reposer. L'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert indique la présence des stérols (**Trease et Evans, 1987**).

- **Flavonoïdes** : Traiter 2,5 ml de l'extrait éthanolique avec 0,5 ml d'HCl et 0,25g de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 min (**Farnsworth et al., 1974**)
- **Anthocyanes** : 2,5 ml de l'extrait éthanolique est traité avec quelques gouttes d'HCl. La présence est mise en évidence lorsque l'obtention d'une coloration rouge plus ou moins intense (**Lagha-Benamrouche et al., 2018**).
- **Tannins** : 1ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de FeCl₃ diluée (1%). L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleu-vert indique la présence des tannins (**Trease et Evans, 1987**).
- **Composés réducteurs** : Introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. la présence des composés réducteurs est indiqué par l'obtention d'une précipitation rouge brique (**El-haoud et al., 2018**).
- **Mucilages** : Introduire 1 ml d'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu(éthanol) est ajouté. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages (**El-haoud et al., 2018**).
- **Amidon** : 1ml d'extrait aqueux est ajouté à 1ml de réactif d'amidon (réactif de Wagner, 1g KI dans 50ml d'eau distillé, chauffer dans un bain marie, 0,5g d'I₂, compléter à 50ml d'eau distillé). L'apparition d'une couleur mauve indique la présence d'amidon (**Bruneton, 1999**).
- **Quinones libres** : Sur un volume de chacun de nos extraits, quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libre (**Oloyede,2005**).
- **Coumarines** : Quelques milligrammes de chaque extrait est solubilisée dans 2ml d'eau chaude solution obtenue est divisée en deux partie égales : La première représente le témoin. La deuxième est traitée avec 0,5 ml de NH₄OH à 10%. L'examen réalisé sous la lumière UV et l'apparition d'une florescence intense révèle la présence des coumarines (**Benmehdi ,2000**).
- **Alcaloïdes** : Pour 1ml de chaque extrait on ajoute 5ml d HCl 1%, l'ensemble est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (**Majob et al., 2003**).

- **Protéines :** 1g de poudre végétale est ajouté à 2 ml NaOH a 20% plus 2 à 3 gouttes de CuSO₄ à 2%. L'apparition d'une coloration violette par fois teinté en rouge indique la présence des protéines (**Belfekih et al., 2017**).
- **Anthraquinones :** 1g de poudre végétale est ajouté à 10ml de CHCl₂, le mélange est chauffé au bain marie sous agitation 3 minutes /55°C, ensuite on filtre la solution en plus ajouté 1ml KOH à 10%, après agitation l'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthraquinones (**Rizk,1982**).

Les tests phytochimiques sur l'extraits éthanolique

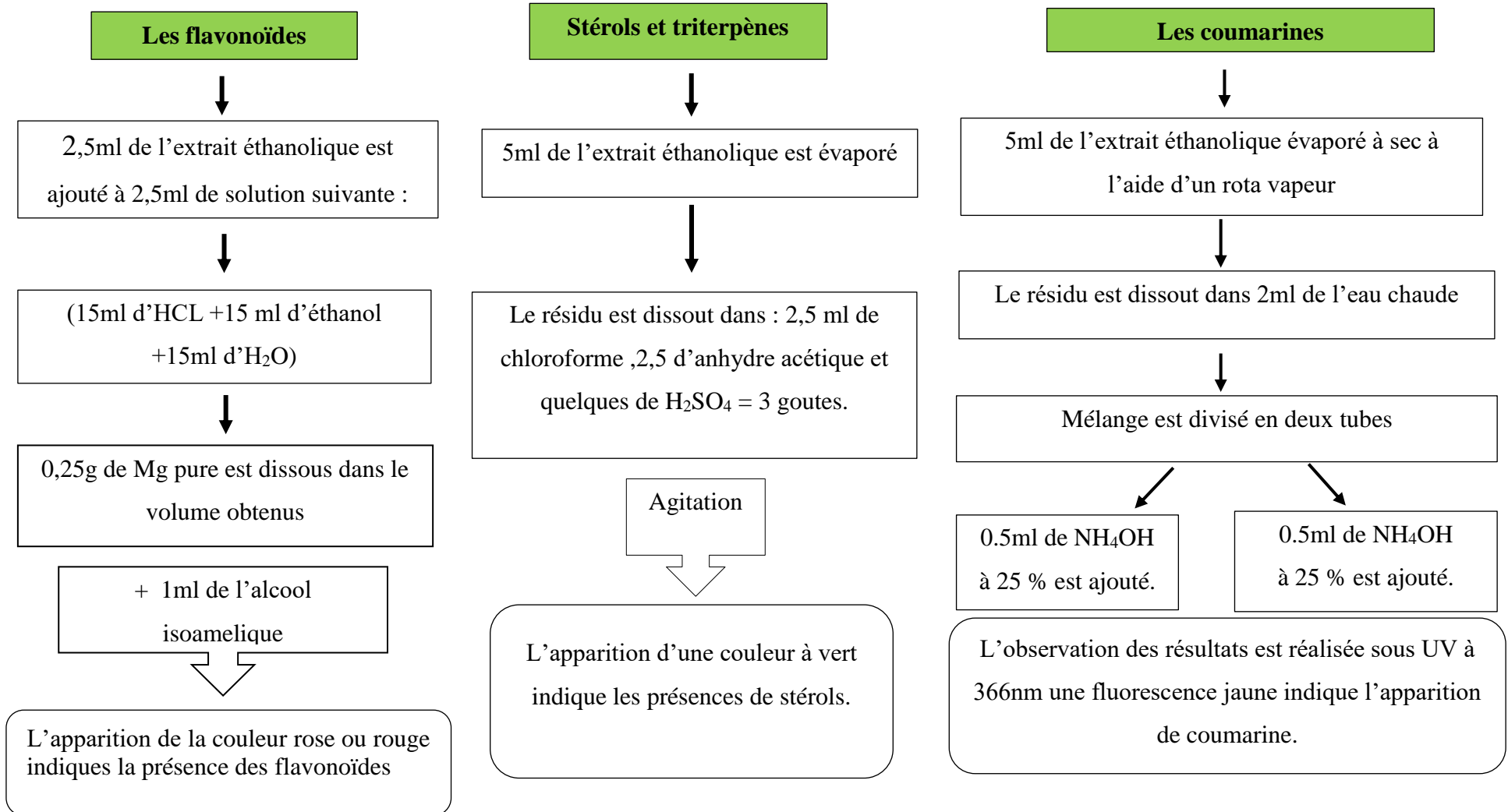


Figure 12 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur l'extraits éthanolique.

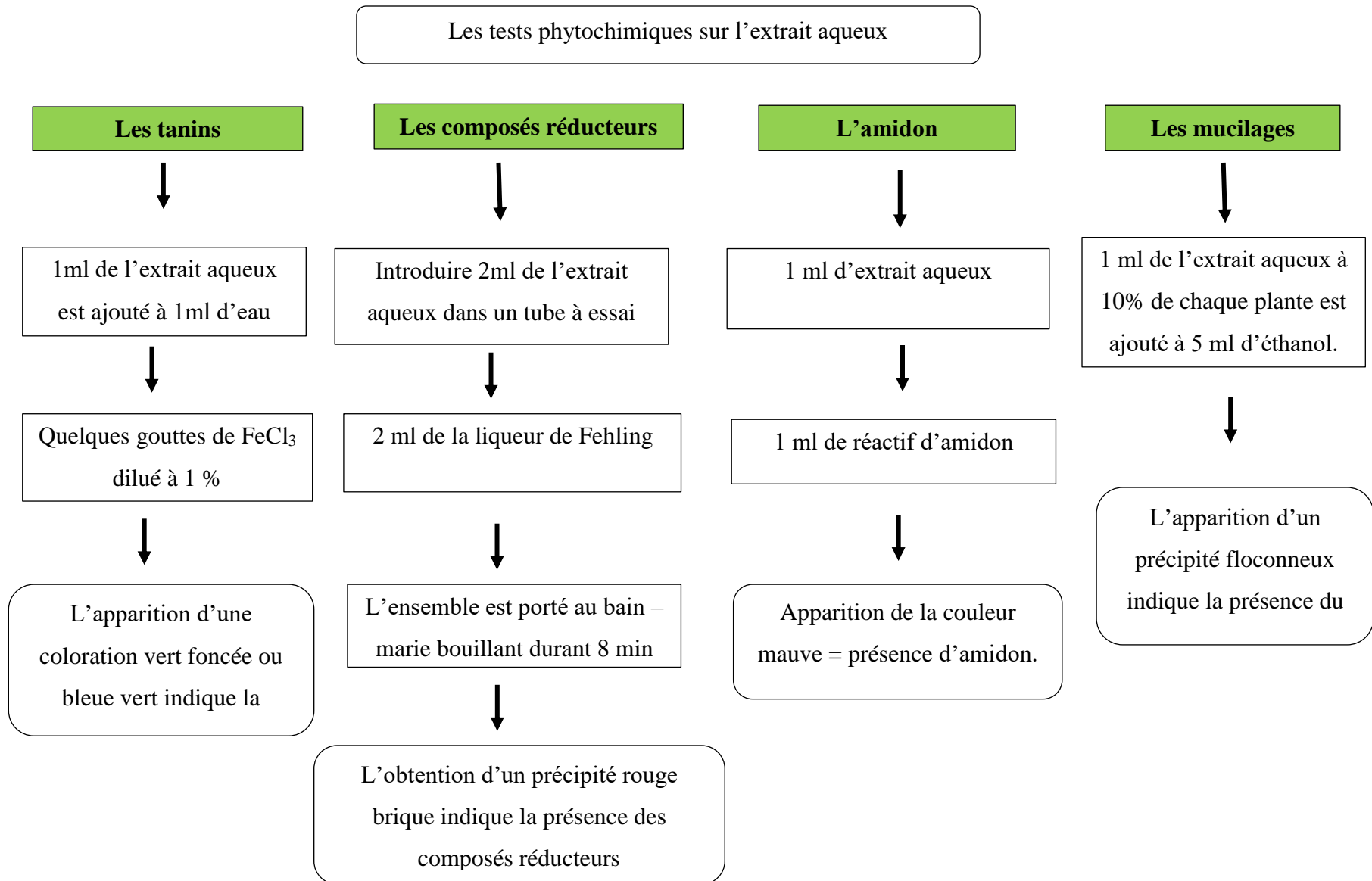


Figure 13 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux.

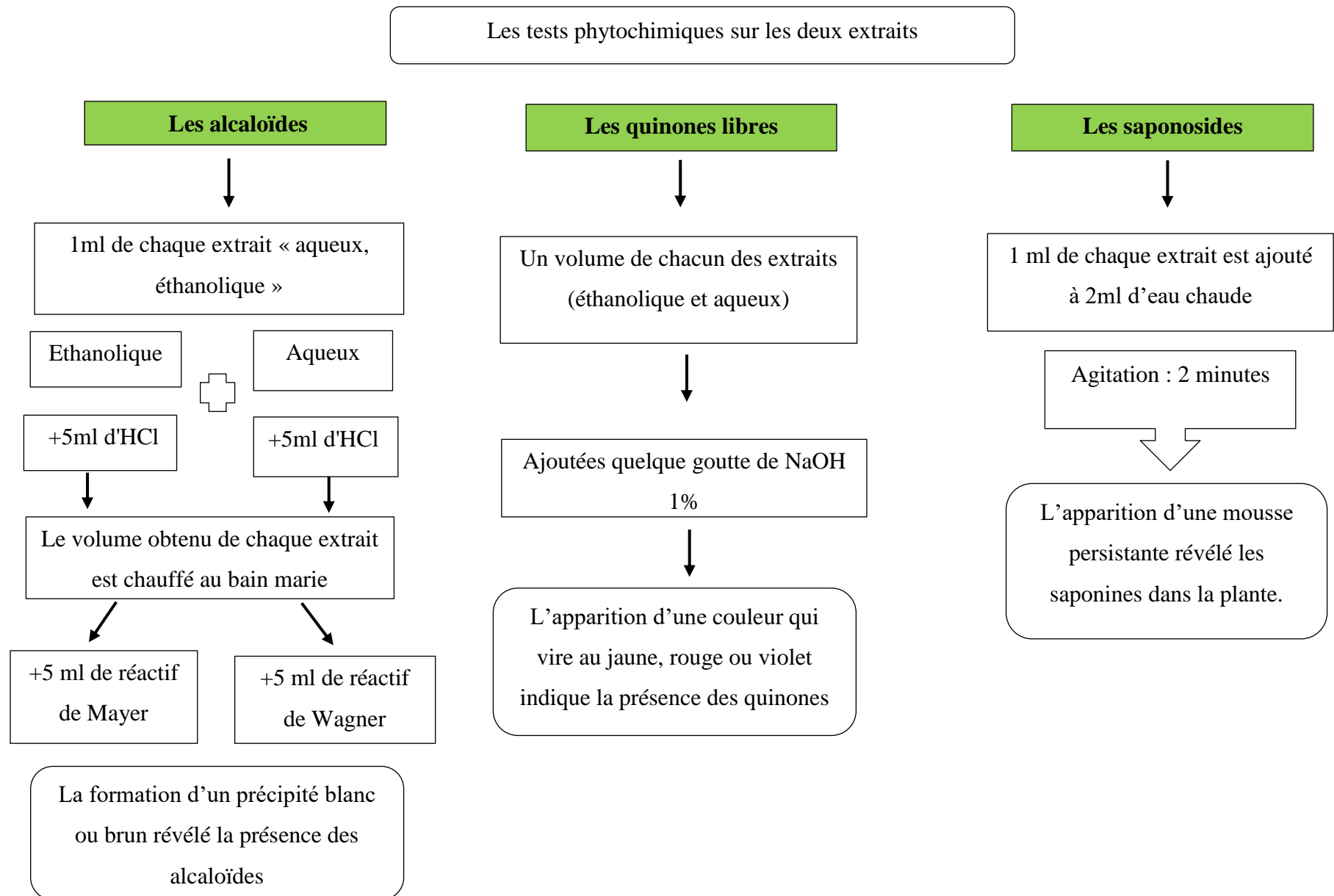


Figure 14 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur les deux extraits.

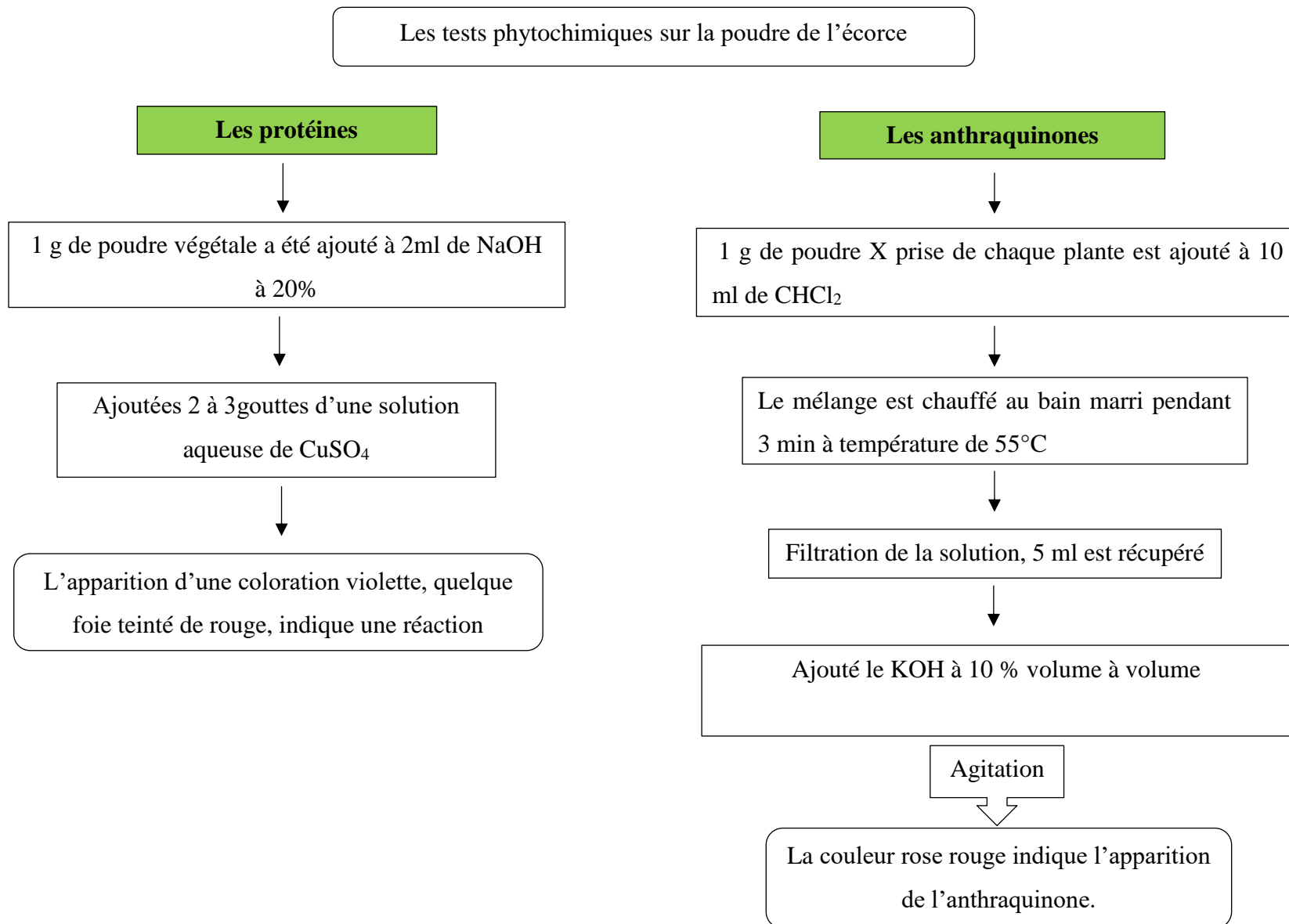


Figure 15 : Protocole des tests phytochimiques effectués sur la poudre de l'écorce.

3 Etude phyto-chimique

3.1 Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est déterminée selon la méthode n° 934.06, 1990 recommandée par l'association AOAC (*The Association Of Analytical Communities*) (AOAC International, 1990), 5g d'échantillon ont été pesés à l'état frais, puis placés dans une étuve réglée à 50°C pendant une nuit, la matière sèche est retirée de l'étuve après refroidissement dans un dessiccateur et l'échantillon séché est pesé.

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante ;

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = [(P_2 - P_3) / (P_2 - P_1)] \times 100$$

P₁ : masse en g du vase de tare.

P₂ : masse en g du (vase de tare + échantillon) avant séchage.

P₃ : masse en g du (vase de tare + échantillon) après séchage.

3.2 Détermination quantitative des métabolites primaires

3.2.1 Dosage des sucres totaux

L'estimation de la quantité en oses présents dans les polysaccharides repose sur le dosage des sucres totaux par la méthode de (Dubois *et al.*, 1956) appelée aussi méthode phénol/acide sulfurique.

a. Principe

Le dosage des monosaccharides constitutifs des polysaccharides nécessite la rupture de toutes les liaisons glycosidiques par hydrolyse acide (l'acide sulfurique). L'analyse repose sur des techniques colorimétriques, dont le principe est basé sur la condensation par estérification d'un chromogène (Phénol) avec les produits de déshydratation des pentoses, hexoses et acides uroniques. En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent respectivement en des dérivés du furfural, 5- hydroxy-méthyl- furfural et de l'acide 5- formylfuroïque. Les chromophores ainsi formés de couleurs jaunes-orange absorbent dans le domaine du visible proportionnellement avec la quantité des sucres présents (Ruiz, 2005). La teneur en sucres est exprimée en µg/ml (converti en g/L) de α D+ Glucose à partir d'une courbe d'étalonnage.

b. Mode opératoire

Pour le dosage des sucres totaux, les étapes suivantes sont réalisées :

- Un bécher contenant 20 ml d'acide sulfurique (0,5 M) et 0,5 g d'échantillon. L'ensemble est alors placé dans une étuve à 105°C pendant 3 h ;
- Le mélange est ensuite transvasé dans une fiole et le volume est ajusté à 500 ml avec de l'eau distillée. La solution ainsi obtenue est filtrée puis conservée à 4°C ;
- Une dilution 1/100 est réalisée à partir de ce filtrat ;
- Nous avons déposé avec précaution 1 ml de filtrat diluée, 1 ml de phénol à 5% et 5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 96% dans des tubes en pyrex (Ø 2 cm) ;
- Après les avoir vortexés, les tubes ont été mis dans l'étuve pendant 5 min à 100°C, puis laissés dans l'obscurité pendant 30 min et la densité optique a été lue à une longueur d'onde $\lambda = 490$ nm.

c. Expression des résultats

La teneur en sucres totaux est calculée à partir des densités optiques obtenues de l'échantillon analysé, en se référant à la courbe d'étalonnage.

3.2.2 Dosage des lipides totaux

a. Principe

L'extraction des huiles de l'écorce du *Citrus Sinensis* est réalisée dans un extracteur de type soxhlet (**figure 16**) à l'aide d'un solvant organique (le n- hexane). Après évaporation de ce dernier par un rota vapeur, l'extrait obtenu représente la matière grasse contenue dans la prise d'essai.

b. Mode opératoire (ISO 1988)

Les étapes du dosage des lipides totaux sont comme suite :

- Dans l'appareil à l'extraction, nous avons placé une cartouche contenant la prise d'essai broyée ;
- La quantité nécessaire de solvant organique (le n- hexane) est versée dans le ballon, ce dernier est alors adapté à l'appareil à extraction sur le bain à chauffage électrique ;
- Après une extraction de 3h et refroidissement la cartouche est enlevée de l'appareil à l'extraction et le solvant est éliminé ;
- Le solvant contenu dans le ballon est éliminé par distillation sur évaporateur rotatif.



Figure 16 : Montage d'une extraction par soxhlet.

c. Expression des résultats

La teneur en lipides, exprimée en pourcentage de masse du produit est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en lipides (\%)} = [(m_f - m_i) / m_e] \times 100$$

m_f : masse finale du ballon.

m_i : masse du ballon vide.

m_e : masse initiale de l'échantillon à analyser.

3.2.3 Dosage de l'azote totale et les protéines brutes

Le dosage a été effectué selon la méthode de Kjeldahl (**Cunniff, 1995**) qui comprend trois étapes : la minéralisation, la distillation et la titration.

a. Principe

La méthode consiste à éliminer la matière organique par l'acide sulfurique concentré et chaud, qui transmet quantitativement l'azote à l'état de sulfate d'ammonium. L'ammoniac est ensuite déplacé par de la soude et recueilli dans un excès d'acide sulfurique de concentration connue. Un titrage en retour par de la soude de concentration connue permet de déduire la quantité d'ammoniac formée, donc la teneur en azote de l'échantillon converti en taux de protéines.

b. Mode opératoire

- Echantillon : 1g de l'échantillon à analyser a été broyé et séché à 105°C jusqu'à poids constant, avant d'être introduit dans un matras de digestion.
- Réactifs de digestion : la digestion de l'échantillon, nécessite l'ajoute dans le matras les réactifs suivantes :
 - 7 g de sulfates de potassium anhydre K_2SO_4 ;
 - 1,2 g de sulfates de cuivre $CuSO_4$;
 - 5 mg de Sélénium en poudre ;
 - 12 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré à 98% ;
 - 5 ml de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 concentré à 35% (130vol) ;
 - 2 à 3 bouilleurs (pierres ponce).
- Digestion

Elle est faite dans une unité de digestion BÜCHI Digest system K-437(étape 1) ;

 - Les matras sont placés sur le dispositif de chauffage ;
 - L'appareil de digestion est préchauffé pendant 10 min ;
 - La minéralisation est lancée et poursuivie jusqu'à l'obtention d'une couleur limpide du mélange (la couleur indique la transformation de tout l'azote organique d'échantillon en azote minérale) ;
 - Le minéralisât (le contenu du matras), transvasé dans une fiole en complétant le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml, a été mélangé soigneusement afin de solubiliser les sulfates d'ammonium au maximum puis nous l'avons laissé refroidir.
- Distillation
 - 10 ml du contenu de la fiole ont été introduits dans le matras de l'unité de distillation contenant 50 ml d'eau distillée et 50 ml de soude caustique (NaOH) à 35%, cette dernière va réagir avec le $(NH_4)_2SO_4$;
 - Le mélange ainsi obtenu a été chauffé pendant 4 min de façon à recueillir un volume de 150 ml de distillat ;
 - Le distillat a été ensuite recueilli dans un flacon de réception contenant 25 ml de solution d'acide borique à 0,1N additionné de 10 gouttes d'indicateur de Tashiro (0,2 g rouge de méthyle et 0,19 g de bleu de méthylène dissouts dans 100 ml d'éthanol) ;
 - La réaction entre l'ammoniac et l'acide borique engendre la libération des anions de borates.

- Titration

L'excès d'anions de borates a été titré avec une solution d'HCl à 0,1N jusqu'à ce qu'il y ait eu un changement de la coloration du vert au rose-violet.

- c. **Expression des résultats**

Le pourcentage d'azote total est calculé par la formule suivante :

$$\text{Azote total (\%)} = N (\%) = (V_e - V_b) \times N \times 14,01 \times 100/m$$

V_e : Volume en ml de la solution d'HCl à 0,1N nécessaire pour neutraliser l'excès d'anions de borates présents dans l'échantillon à analyser.

V_b : Volume en ml de la solution d'HCl à 0,1N nécessaire pour neutraliser l'excès des anions de borates présents dans l'essai à blanc.

N : normalité de HCl utilisé pour le titrage (0,1N).

14,01 : masse atomique de l'azote.

m : masse en g de la prise d'essai.

- **Conversion du taux d'azote en taux de protéines**

100 g de protéines correspondent à 16 g d'azote dans la majorité des cas. Un facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines est alors utilisé avec : **F=100/16 =6,25**

$$\text{Protéines brutes (\%)} = \text{PB\%} = N \% \times 6,25$$

4 Dosage des composés phénoliques

4.1 Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

L'évaluation quantitative des composés phénoliques dans les extraits végétaux est basée sur leurs capacités de réduire le mélange d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$) phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) du réactif de Folin-Ciocalteu et une formation d'un complexe bleu (**Peri et Pompei, 1971**), qui possède une absorption maximale aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle aux taux de composés phénoliques.

b. Mode opératoire

Le dosage des polyphénols est accompli selon la méthode décrite par Vermerris et Nicholson en 2006 (figure17).

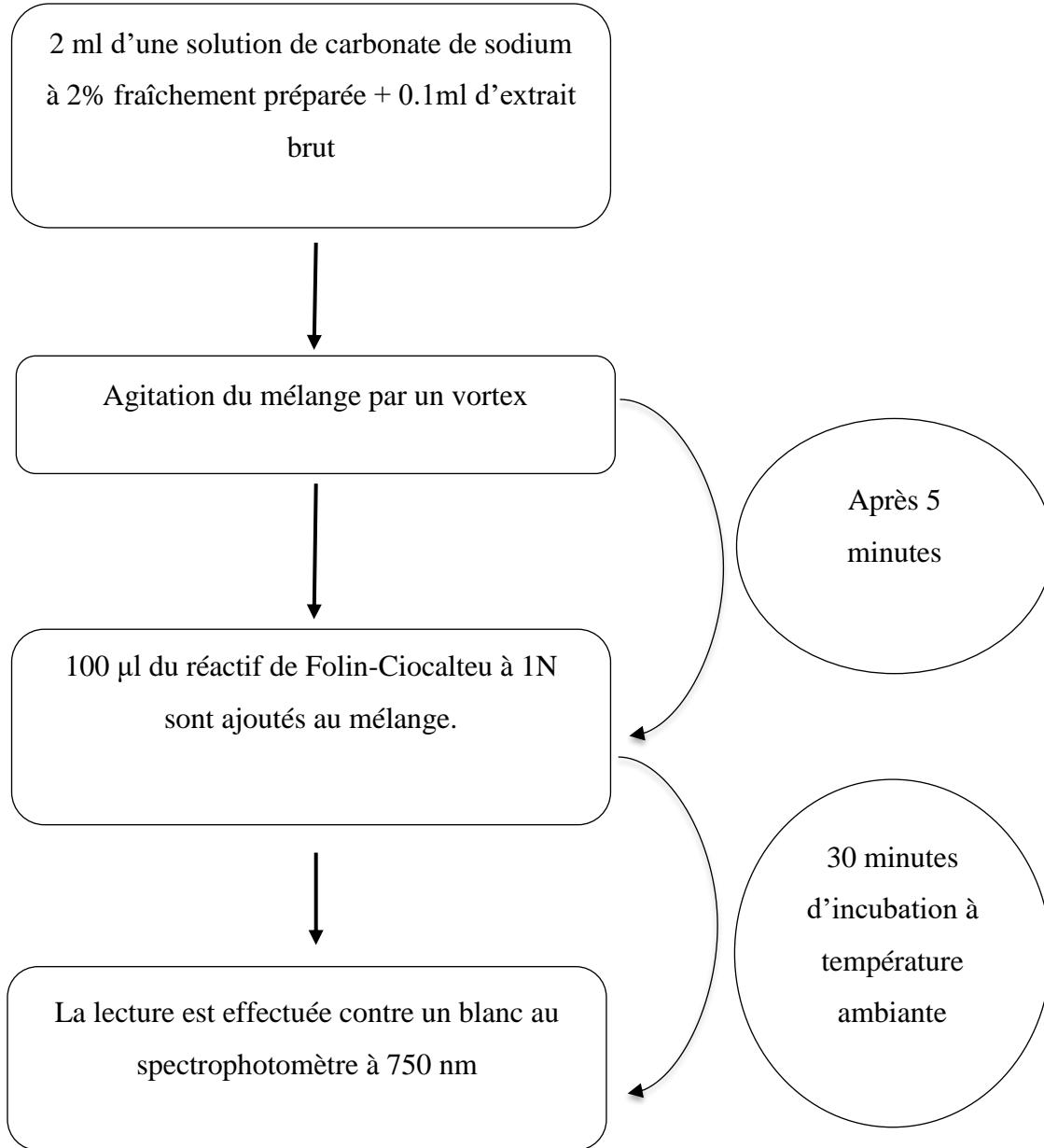


Figure 17 : Protocole expérimental du dosage des polyphénols totaux (El-Haci et al., 2012)

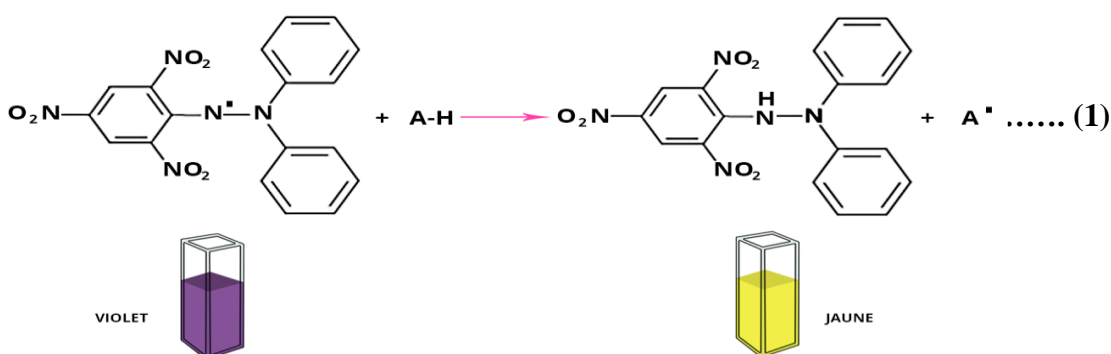
5 Etude de l'activité antioxydante

La mise en évidence de l'activité antioxydante de nos extraits (aqueux et éthanolique) in vitro a été réalisée par la technique de piégeage de radical libre DPPH.

5.1 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Cette méthode est basée sur le calcul de la capacité de différentes molécules antioxydantes à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH) qui est réduit à la forme non radicalaire (hydrazine) en acceptant un atome d'hydrogène.

La capacité de réduction du radical DPPH est déterminée par la diminution de son absorbance à son absorption maximale à 515 nm, Ceci est visualisé par le changement de couleur du violet au jaune (réaction 1). Cette diminution est induite par la molécule antioxydante (**Majhenić *et al.*, 2007**).



b. Protocole expérimental

- 50 μ l de chaque extrait à différentes concentrations sont préparés dans du méthanol, et ont été ajoutés 1,95 ml de la solution de DPPH fraîchement préparée à $6,34 \times 10^{-5}$ M ;
- Agitation des tubes par un vortex ;
- Préparation d'un blanc pour chaque concentration (50 μ l de chaque solution à tester + 1,95 ml de méthanol) ;
- Le contrôle négatif est préparé en parallèle, en mélangeant 50 μ l du méthanol avec 1,95 ml de DPPH ;
- Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm au spectrophotomètre (**Atoui *et al.*, 2005**).
- L'acide ascorbique utilisé comme un standard a subi les mêmes conditions opératoires.

c. Expression des résultats

- **Pourcentage d'inhibition**

Détermination des pourcentages d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$I\% = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : Absorbance du contrôle.

A_T : Absorbance du test effectué.

- **Calcul des IC_{50}**

Concentration inhibitrice 50 nous permet de calculer la concentration de l'échantillon d'essai requise pour réduire 50% de radical DPPH. Ces derniers sont déterminés par extrapolation des valeurs d'absorbance sur les graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées (**Bertoncelj *et al.*, 2007 ; Marxen *et al.*, 2007 ; Scherer *et Godoy*, 2009 ; Fabri *et al.*, 2009**).

- **Calcul de l'activité anti-radicalaire**

La déduction de l'activité anti-radicalaire de nos extraits est inversement proportionnelle aux valeurs des IC_{50} trouvées (**Maisuthisakul *et al.*, 2007**).

$$A_{AR} = 1/IC_{50}$$

6 La chromatographie sur couche mince

a. Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse. Elle est principalement basée sur des phénomènes d'adsorption.

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui chemine le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide en matière plastique ou en aluminium. Après le dépôt de l'échantillon sur la phase stationnaire, la vitesse de migration de l'espèce dépend de sa nature et de la nature du solvant (**Kanoun, 2011**).

b. Mode opératoire

Dans notre travail, nous avons réalisé la séparation des fractions (aqueux, éthanolique) sur un support de gel de silice avec un système de solvant approprié :

Nos analyses sur couche mince ont été réalisées sur une plaque de Silicagel 60 F254 prêtes à l'emploi à support d'aluminium (20×20 cm) (Merck), avec le système de solvant suivant ;

Système I : Acétate d'éthyle/ Acide formique/ Eau distillée : (65 : 1,5 : 9) (**Males et Medic-Saric,2001**).

Après développement du chromatogramme, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV à la longueur d'onde 365 nm.

Le comportement d'une molécule particulière dans un système donné est exprimé par son Rf (rate factor ou rapport frontal), qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (front du solvant) et qui peut donc être compris entre 0 et 1 (**Hennebelle, 2006**). Après cette étape, une solution de DPPH diluée dans le méthanol a été pulvérisée sur la surface la plaque de CCM préalablement développées et incubé pendant 10 min à température ambiante.

Les constituants antioxydants actifs des extraits aqueux et éthanolique ont été détectés comme des spots jaunâtres ou blancs créés par la décoloration du DPPH sur les plaques CCM. Après comparaison visuelle avec l'intensité de cette décoloration des bandes sur la CCM contre un standard positif, l'activité antioxydante des composants de l'écorce d'orange ont été provisoirement classés comme activités fortes et faibles. Tous les constituants antioxydants actifs détectés ont été notés en fonction de leurs valeurs Rf (**Bhattarai et al., 2008**).

7 Etudes statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm erreur standard et le coefficient de corrélation est calculé en utilisant la corrélation de *Pearson* (logiciel : Microsoft Excel).

Résultats et discussion

1 Screening phytochimique

Le screening phytochimique est une technique permettant de déterminer qualitativement la présence de certains composés chimiques sur la base de réactions impliquant leurs groupes fonctionnels spécifiques. Ces composés chimiques sont transformés en produits de réaction contenant soit des chromophores émettant une couleur, soit des fluorophores émettant une fluorescence, ainsi qu'un changement d'état redox et/ou une précipitation (insolubilité dans les solvants).

Le **tableau 4** récapitule les résultats de l'ensemble des tests effectués. On constate la forte présence des composants phytochimiques tels que les flavonoïdes, des coumarines, des stéroïls et terpènes dans l'extrait éthanolique, des sucres réducteurs, des tanins, des mucilages, de l'amidon dans l'extrait aqueux et la présence des alcaloïdes dans les deux extraits.

On note aussi l'absence des anthocyanes dans l'extrait éthanolique, de saponosides dans l'extrait aqueux et de quinones dans les deux extraits.

Nos résultats montrent la forte présence des protéines dans la poudre d'écorce et sont en accord avec ceux obtenus par Mathew *et al.*, (2012). L'absence des anthraquinones dans notre étude est confirmée par les résultats des travaux réalisés par Gotmare *et Gade* (2018).

Les travaux de Lagha-Benamrouche *et al.*, (2018) sur les tests phytochimiques de l'écorce du Thomson navel ont démontré la présence des composés phénoliques (tanins, flavonoïdes et coumarines), des terpénoïdes (stéroïls, terpènes), des sucres réducteurs et des mucilages et l'absence de saponosides et anthocyanes, ceci corrobore nos résultats, ces travaux marquent aussi l'absence des alcaloïdes. Par contre ces derniers sont présents dans nos résultats qui peut être expliquée par la différence des méthodes et des solvants d'extraction utilisés, par des facteurs génétiques (He *et al.*, 2011), environnementaux de la région de la récolte (Ncube *et al.*, 2012).

Tableau 4 : Résultats du screening phytochimiques.

Famille de composés	Extrait éthanolique	Extrait aqueux	La poudre végétale
Sucres réducteurs	ND	+++	ND
Stérols et terpènes	+++	ND	ND
Flavonoïdes	+++	ND	ND
Anthocyanes	-	ND	ND
Tanins	ND	+++	ND
Amidon	ND	++	ND
Saponosides	ND	-	ND
Alcaloïdes	++	+	ND
Coumarines	+++	ND	ND
Mucilages	ND	+++	ND
Quinones	-	-	ND
Protéines	ND	ND	+++
Anthraquinones	ND	ND	-

(+++): Test fortement positif; (++) : Test moyennement positif; (+) : Test faiblement positif; (-) : Test négatif; ND : Non déterminé.

2 Taux de l'humidité

La mesure du taux d'humidité au niveau de l'écorce du *Citrus sinensis* Thomson navel, a montré une faible proportion d'eau au niveau de la matière sèche qui égale $6,35 \pm 0,5\%$, à partir de cette valeur nous avons déterminé le pourcentage en matière sèche qui est de 93,65%.

Les résultats sont légèrement supérieurs à ceux trouvés par M'hiri *et al.* (2015) qui ont trouvé que la teneur en eau au niveau de l'écorce d'orange Maltaise est de 3,16%, cependant, ils sont inférieurs à la teneur en eau de 40,7% mesurée par Ahmed *et al.* (2015) au niveau de l'écorce du *Citrus sinensis*. Cette différence marquée est probablement liée au climat (Waheed *et al.*, 2009), aux facteurs génétiques, aux facteurs agricoles (Causse, 2007) ainsi qu'aux méthodes analytiques utilisées (M'hiri *et al.*, 2014),.

En effet, dans une étude menée par Özcan et ses collaborateurs (2021) sur le taux d'humidité en fonction de différentes techniques de séchage, ils ont pu constater que l'utilisation du four à 60°C,

du four à microondes à 940 W ou encore un four à infrarouge à 60°C, fait changer le taux d'humidité d'environ 5%.

3 Métabolites primaires

Les résultats obtenus montrent que l'écorce étudiée présente des teneurs en glucides ($9,6 \pm 0,2\%$) suivi par les protéines ($8,75 \pm 0,15\%$) et des teneurs en lipides ($2,64 \pm 0,36\%$) (**figure 18**).

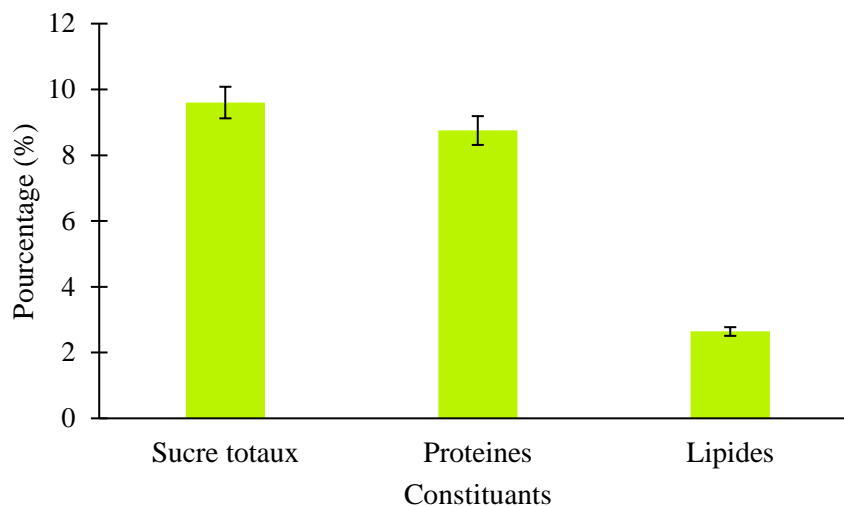


Figure 18 : Teneur en métabolites primaires d'écorce de *Citrus sinensis*.

L'évaluation des teneurs en métabolites primaires de notre écorce du *citrus sinensis* a montré une teneur en protéines de $8,75 \pm 0,15 \%$ qui est très proche à celui obtenu par M'hiri *et al.*, (2015) qui ont trouvé que la teneur en protéines au niveau de l'écorce d'orange Maltaise est de 8,12%. Alors qu'elle est légèrement inférieure à celui trouvé par Anthony C. Cemaluk et Osuji, (2016) dans la même variété (9,06%).

La teneur en lipides ($2,6 \pm 0,36 \%$) de notre échantillon est légèrement supérieur à ceux déclarées par Ahmed *et al.*, (2015) qui égale 1,85% trouvé au niveau de l'écorce d'orange pakistanaise.

Concernant le taux de sucre, les résultats montrent que l'écorce du *Citrus sinensis* montre une teneur de $9,6 \pm 0,2 \%$ proche à celui trouvé par Ahmed *et al.*, (2015).

Cette différence des teneurs de métabolites primaires peut être attribuée à des facteurs pédoclimatiques (type de sol, exposition au soleil et précipitations), à des facteurs génétiques, à des facteurs agricoles (agriculture biologique, production d'arbres fruitiers, état de maturation, zone de culture, fertilisation, irrigation) (Causse *et al.*, 2007) et aux méthodes analytiques utilisées (nature du solvant, température, traitement de l'échantillon, séchage, broyage...) (M'hiri *et al.*, 2014).

4 Dosage des composés phénoliques

4.1 Teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est effectué par une méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par Vermarris et Nicholson (2006). L'estimation a été faite grâce à une courbe d'étalonnage (figure 19), réalisée avec un standard de référence « l'acide gallique » à des concentrations variantes de 25 à 200 µg/ml. La teneur en composés phénoliques dans les deux extraits (aqueux et éthanolique) exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

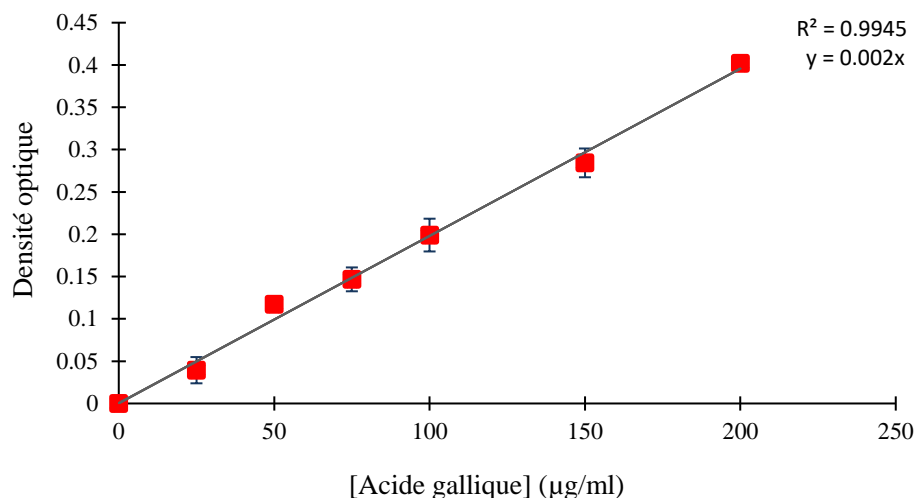


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols totaux, en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = 0,002 x$) sont rapportés dans le tableau ci-dessous (tableau 5).

Tableau 5 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Citrus sinensis* Thomson Navel

Espèce d'orange	Partie du fruit	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	
		Extrait aqueux	Extrait éthanolique
<i>Citrus sinensis</i> (Thomson navel)	Ecorce	38,4 ± 0,05	20,2 ± 0,01

Les résultats représentés, révèlent que les polyphénols sont présents avec des teneurs variables dans l'écorce de l'espèce d'orange étudiée.

La teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux est plus élevée que celle trouvée dans l'extrait éthanolique, bien que Molan *et al.*, (2016) ont obtenu un taux en polyphénols totaux plus élevée

dans l'extrait éthanolique ($25,90 \pm 1,70$ mg EAG/g MS) que dans l'extrait aqueux ($15,10 \pm 1,70$ mg EAG/g).

Les résultats d'étude faite par Molan *et al.*, (2016) indiquent que la teneur en polyphénols totaux d'écorce de *Citrus sinensis* dans l'extrait aqueux ($15,10 \pm 1,70$ mg EAG/g) est inférieure à notre résultat ($38,4 \pm 0,05$ mg EAG/g MS). Alors que, Selmi *et al.*, (2017) ont trouvé un teneur en polyphénols totaux ($169,94 \pm 2,13$ mg EAG/g MS) supérieure à celle trouvée dans notre étude pour le même type d'extrait.

Les extraits éthanoliques de l'écorce de *Citrus sinensis* de Molan *et al.*, (2016) présentent une teneur en polyphénols totaux ($25,9 \pm 1,7$ mg EAG/g MS), supérieur à celle que nous avons trouvé ($20,2 \pm 0,01$ mg EAG/g MS).

Par rapport à d'autres espèces d'agrumes, l'écorce de *Citrus sinensis* présente une teneur en polyphénols inférieure à celle de *Citrus limon*, dont les teneurs en polyphénols totaux sont de 420 mg EAG/g d'après les travaux de (Li *et al.*, 2016).

Cette différence de teneurs en polyphénols totaux peut être expliquer par la complication de l'extraction des polyphénols, l'influence de la variété, le mode de conservation des extraits, les facteurs environnementaux, les facteurs génétiques et le degré de maturité du fruit (Lagha-Benamrouche *et Madani*, 2013).

Selon Al-Anbari *et Hasan* (2015), le tissu analysé et l'origine géographique de la plante peuvent influencer la teneur en polyphénols.

5 Etude de l'activité antioxydante

5.1 Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le radical violet DPPH est réduit en présence de piègeurs de radicaux libres, sa couleur vire donc au jaune, dont l'absorbance a été mesurée à 517 nm (figure 20).

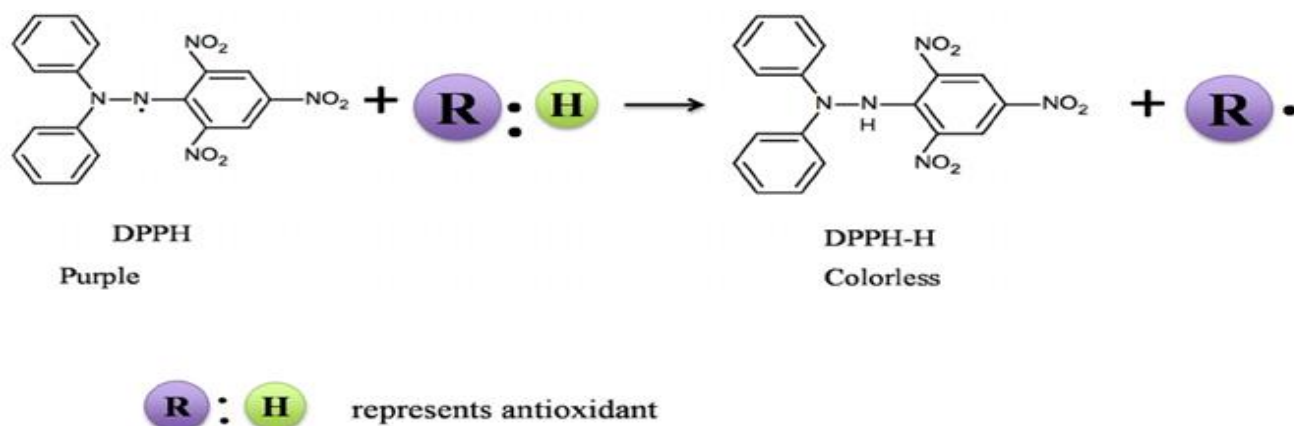


Figure 20 : Réaction du piégeage du radical libre DPPH (Liang & Kitts, 2014).

Les valeurs obtenues nous ont permis de tracer des courbes d'inhibition de l'oxydation du DPPH en fonction des concentrations de nos extraits d'une part et de l'antioxydant de référence d'autre part. Les résultats sont présentés dans la **figure 21**. Les différentes valeurs IC_{50} du pouvoir inhibiteur vis-à-vis du radical libre DPPH ont été déterminées à l'aide d'équations de régression non linéaires.

Les trois courbes montrent que le pourcentage d'inhibition de radical corrèle positivement avec la concentration pondérale. L'extrait aqueux montre une valeur d' IC_{50} égale à $52,069 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$ et l' IC_{50} de l'extrait éthanolique est équivalente à $49,409 \pm 0,46 \mu\text{g/ml}$, ces valeurs sont supérieures de celle obtenue par l'acide ascorbique ($28,562 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$) (**tableau 6**).

L'activité anti-radicalaire est définie comme l'inverse de l' IC_{50} ($1/IC_{50}$) des différents extraits, cela signifie qu'une valeur faible d' IC_{50} correspond à une activité antiradicalaire élevée (**Fidrianny et al., 2016**) (**figure 22**). De ces résultats nous pouvons conclure que les extraits de l'écorce du *Citrus sinensis* de la variété Thomson Navel possèdent une activité antiradicalaire relativement égale à celle de l'acide ascorbique et qui est largement supérieure à celle trouvée par Zulkifi *et al.*, (**2012**) qui est de $564 \mu\text{g/ml}$ par rapport celle de l'acide ascorbique.

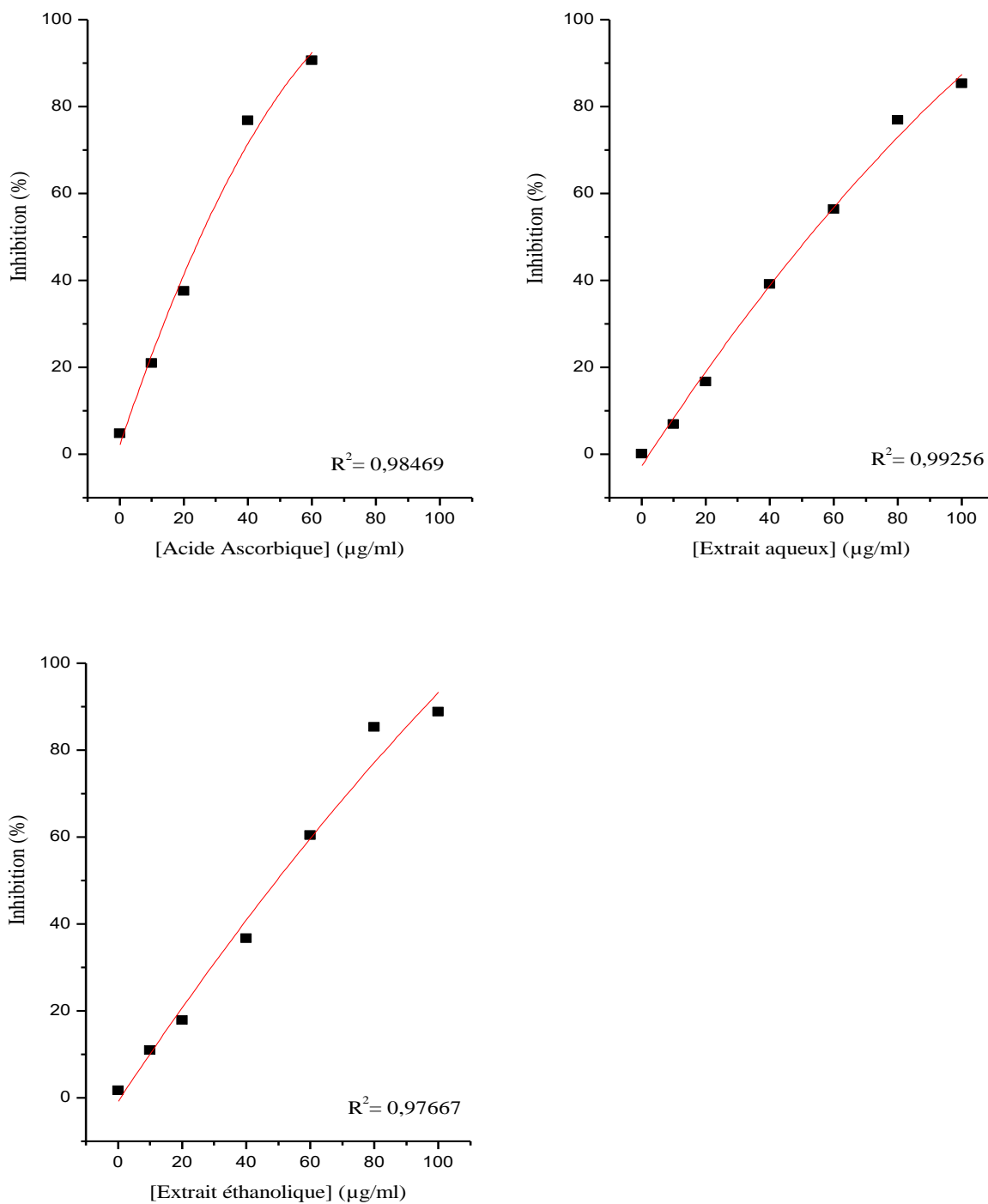


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'acide ascorbique, de l'extrait aqueux et de l'extrait éthanolique.

Tableau 6 : Valeurs d'IC50 des extraits de *Citrus sinensis*.

	Extrait aqueux (µg/ml)	Extrait éthanolique (µg/ml)
IC50 de l'écorce de <i>Citrus sinensis</i>	52,069 ± 0,54	49,409 ± 0,46
IC50 de l'acide ascorbique	28,562 ± 0,13	

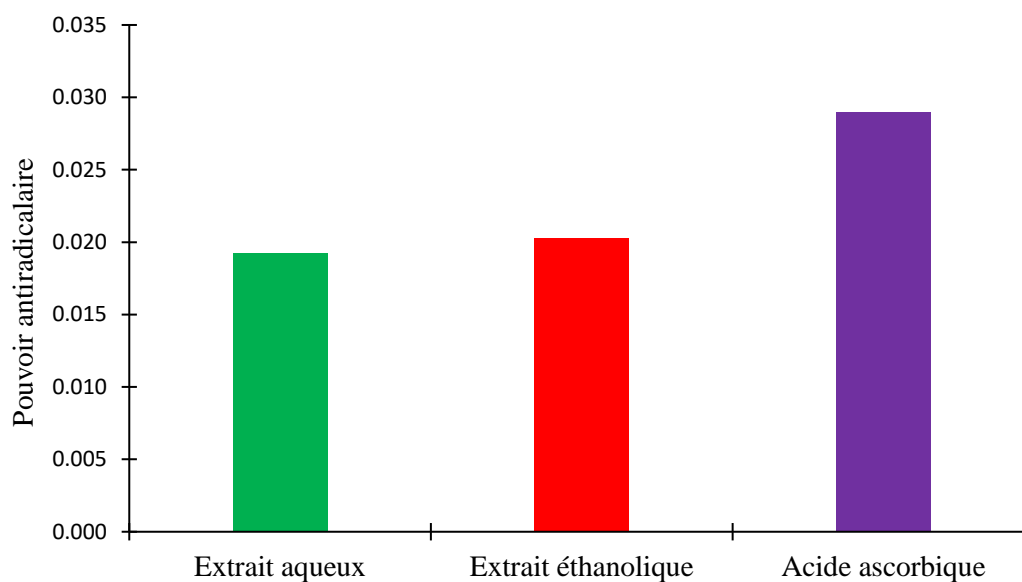


Figure 22 : Pouvoir antiradicalaire des extraits de l'écorce de *Citrus sinensis*.

5.2 Corrélation entre la teneur en Polyphénols totaux et l'activité antioxydante

Nos résultats indiquent la présence d'une très bonne corrélation positive entre l'activité de piégeage contre le radical DPPH et la teneur en polyphénols totaux des écorces de *Citrus sinensis* où le coefficient de corrélation de *Pearson* était de 0,73 (**figure 23**), ce qui est en accord avec les travaux de Pichaiyongvongdee *et al.* (2014).

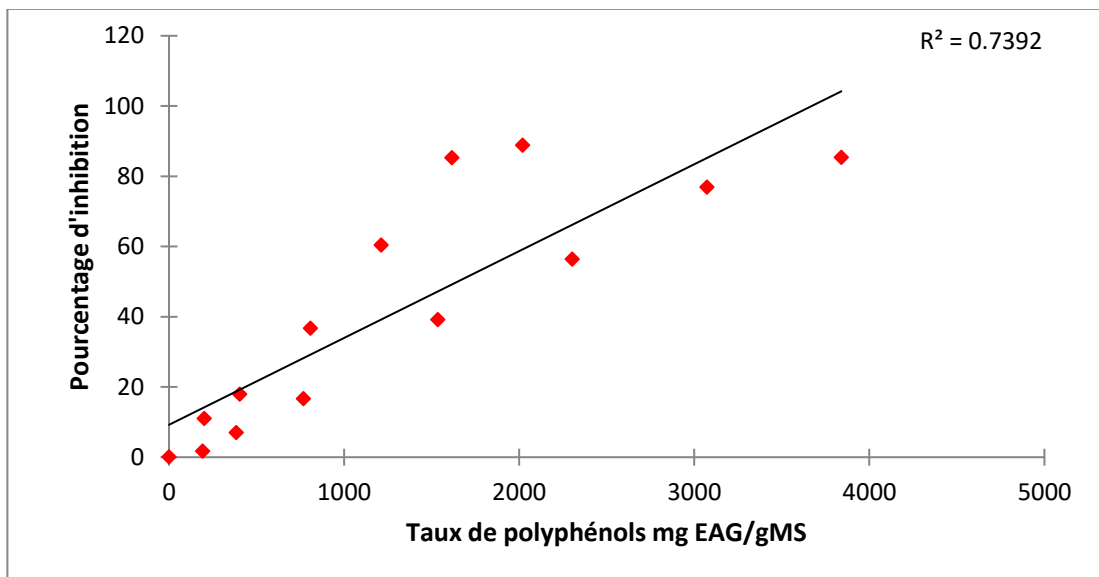


Figure 23 : Corrélation entre la teneur en polyphénols totaux et l'activité antioxydante.

6 La chromatographie sur couche mince

Pour tester qualitativement la composition phénolique de nos différents extraits, on a utilisé la chromatographie sur couche mince. Cette dernière est rapide, simple à mettre en œuvre et utilisée en routine dans les laboratoires pour la séparation et la purification des différents constituants de la matière végétale.

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur une plaque de gel de silice avec un système d'élution composé de : Acétate d'éthyle /Acide formique/ Eau (65 : 1,5 : 9). Selon le travail réalisé par Males *et* Medic-Saric, (2001), cette phase mobile a présenté un grand pouvoir de séparation et un contenu informationnel élevé par rapport à d'autre système d'élution.

L'analyse chromatographique des différents extraits (aqueux, éthanolique) a permis l'apparition de nombreux spots (figure 24). Différents l'un de l'autre par la valeur du rapport frontal (Rf) (tableau 6) et de leurs colorations avant et après révélation.

La séparation par chromatographie sur couche mince de l'extrait éthanolique a permis la distinction de 8 spots de différentes couleurs, numérotés du dépôt vers le front du solvant avec des rapports frontaux de 0,06 jusqu'à 0,91. Le spot numéro 1 est de couleur rose, les spots numéro 2,3 et 6 ont une couleur bleue, les spots numéro 4,7 et 8 émettent une couleur violette et le spot numéro 5 porte la couleur blanche.

Pour l'extrait aqueux on remarque la présence de 6 spots de différentes couleurs, numéroté du dépôt vers le front du solvant avec des rapports frontales de 0,02 jusqu'à 0,85. Les spots numéro 1,2

et 5 partagent la couleur bleue, les spots numéro 3 et 6 ont une couleur violette et le spot numéro 4 portes la couleur blanche.

Sur la base des observations de Markham (1982), les couleurs des spots obtenus nous permettent de suggérer la présence de fluorophore typique des composés flavones et flavanols glycosides avec une couleur violette, les acides phénoliques avec une fluorescence bleue, des isoflavones, émettent une fluorescence blanche, ainsi que des composés anthocyanidines 3-5 di glycosides de couleur rose, confirment les résultats de Salas *et al.*, (2011) qui ont trouvés que la *Citrus sinensis* contiennent plus 60 types des flavonoïdes regroupés selon leur structure moléculaires en flavones, flavanols...

De plus, il semble que l'extraction par de l'éthanol permet d'avoir deux groupes de composés supplémentaires par rapport à la macération en eau qui est en accord avec les résultats de Falleh *et al.*, (2021) qui ont trouvé que l'extraction par éthanol a marqué des teneurs plus élevés en composés phénoliques par rapport à celle obtenus avec l'eau. Ces écarts de solubilité des composés phénoliques selon la polarité du solvant sont essentiellement liés à la nature, à la structure, au degré de polymérisation et à l'interaction entre eux (Maisuthisakul *et al.*, 2007).

Une comparaison des rapports frontaux des spots des extraits aqueux et éthanoliques avec ceux des standards utilisées (acide gallique, catéchine, quercétine) émettent les couleurs violette, jaunâtre et un rapport frontal de 0,84 ; 0,89 ; 0,82, respectivement (tableau 7), montre que seul l'extrait éthanolique contient un spot isolé similaire à celui de l'acide gallique.

Le traitement de la plaque CCM par le DPPH dissous dans le méthanol permet d'obtenir des informations sur l'activité antioxydante des différents composants des extraits testés, l'apparition d'une couleur jaune pour le spot numéro 6 des extraits aqueux et les spots numéro 5 et 6 dans le cas des extraits éthanoliques a permis de qualifier ce pouvoir antioxydant. L'apparition de cette couleur jaune au niveau des positions des dépôts sur la plaque après traitement par la solution de DPPH, nous laisse suggérer la présence de certains composés à activité antioxydante non solubles dans le système de la phase mobile. On constate aussi que les flavones et flavanols glycoside possèdent la meilleure activité antioxydante ce qui est en accord avec les études de Panche *et al.*, (2016).



A : Extrait aqueux ; E : Extrait éthanolique ; AG : Acide gallique ; Q : Quercétine ; C : Catéchine.

Figure 24 : Chromatographie sur couche mince de différents extraits de l'écorce de *Citrus sinensis* Thomson navel.

Tableau 7 : Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de l'écorce de *Citrus sinensis* Thomson Navel.

	Extrait éthanolique	Extrait aqueux	Acide gallique	Catéchine	Quercétine
N° de spot	Couleur (Rf)	Couleur (Rf)	Couleur (Rf)	Couleur (Rf)	Couleur (Rf)
1	Rose (0,06)	Bleu (0,02)	Violet (0,84)	Violet (0,89)	Jaune (0,82)
2	Bleu (0,11)	Bleu (0,05)			
3	Bleu (0,16)	Violet (0,12)			
4	Violet (0,19)	Blanc (0,75)			
5	Blanc (0,74)	Bleu (0,8)			
6	Bleu (0,8)	Violet (0,85)			
7	Violet (0,84)				
8	Violet (0,91)				

Rf : rapport frontale

Conclusion

L'industrie agro-alimentaire génère des quantités énormes de déchets liquides et solides résiduels telle que les écorces de fruits. Cette vaste quantité de résidus englobe la génération annuelle de problèmes agricoles et environnementaux.

La présente étude, s'est intéressée à la composition chimique, phytochimique de l'écorce d'orange (EO) *Citrus sinensis* de la variété Thomson navel de la région de Tlemcen afin d'obtenir une valeur nutritive et un potentiel antioxydant nouveau.

En premier, les essais phytochimiques testés sur deux types d'extraits aqueux et éthanoliques de EO montrent une forte présence des composants phytochimiques tels que les flavonoïdes, les coumarines, les stéroïdes et terpènes dans l'extrait éthanolique, des sucres réducteurs, des tanins, des mucilages, de l'amidon dans l'extrait aqueux et la présence des alcaloïdes dans les deux extraits. Par ailleurs, on note l'absence des anthocyanes dans l'extrait éthanolique, de saponosides dans l'extrait aqueux et de quinones dans les deux extraits. De plus, on note la présence des protéines et l'absence des anthraquinones au niveau de la poudre d'écorce.

Il ressort de l'analyse des métabolites primaires une faible teneur en eau à $6,35 \pm 0,5 \%$, des teneurs acceptables en sucres, protéines, lipides à $9,6 \pm 0,2 \%$; $8,75 \pm 0,15 \%$; $2,64 \pm 0,36 \%$, respectivement.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux a été évaluée par colorimétrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu à partir de deux extraits différents de EO. Ces derniers ont montré une abondance des polyphénols dans les deux extraits plus précisément, l'extrait aqueux a marqué la meilleure teneur ($38,4 \pm 0,05$ mg EAG/g MS).

L'évaluation de l'activité antioxydante effectuée sur les deux extraits a été analysée par la technique du piégeage du radical libre DPPH où l'extrait éthanolique était le plus apte à piéger les radicaux libres que l'extrait aqueux dans le matériel végétal étudié en les comparant à l'acide ascorbique. De plus, l'étude statistique de nos résultats a montré une très bonne corrélation entre l'activité de piégeage du radical DPPH et la teneur en polyphénols totaux de l'écorce ($R^2 = 0,730$).

La séparation par chromatographie sur couche mince des extraits éthanoliques et aqueux de l'écorce a mis en évidence la présence de plusieurs types de flavonoïdes et d'acides phénoliques. La révélation de la plaque CCM par le DPPH a montré que la classe des flavones et flavanols glycoside possède la meilleure activité antioxydante.

Nos résultats montrent que les écorces d'oranges ont un potentiel très prometteur à valoriser en tant que résidu très riche en molécules bioactives avec une valeur nutritionnelle marquée pouvant l'utiliser dans les domaines agroalimentaires, pharmaceutique ou cosmétique.

A partir de ces résultats, d'autres études plus poussées sont nécessaires pour approfondir nos connaissances sur le sujet, donc en termes de perspectives futures :

- L'utilisation d'autres solvants d'extraction en chaîne dans le but d'augmenter le rendement d'extraction et d'obtenir une meilleure solubilité des composés bioactifs ;
- Compléter la caractérisation des substances actives par d'autres techniques qualitatives et quantitatives ;
- D'autres tests de l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo* avec différents mécanismes doivent être investis pour confirmer la capacité antioxydante de l'EO ;
- Élargir le champ d'étude en examinant d'autres espèces d'écorce issu de l'industrie agroalimentaire à des fins comparatives.

Références bibliographique

- Abd El-aal, H., & Halaweish, F. (2010). Food preservative activity of phenolic compounds in orange peel extracts (*Citrus sinensis* L.). *Lucrări Științifice-Seria Zootehnie*, 53(15), 233-240.
- Ahmad, J., & Langrish, T. (2012). Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction. *Journal of Food Engineering*, 109(1), 162-174.
- Ahmed, I., Zia, M., Azhar, M., Akram, Z., Naveed, T., & Nowrouzi, A. (2015). Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9.
- Al-Anbari, A. K. H., & Hasan, M. A. (2015). Antioxidant activity in some citrus leaves and seeds ethanolic extracts. *AABES London UK*, 93-97.
- Albuquerque, A., Silva, P., Cavalcante, A., & Sampaio, F. (2013). Polyphenols as a source of antimicrobial agents against human pathogens. *Plant Extracts*, 275, 293.
- Andersson, C.-M., Hallberg, A., & Högberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. In *Advances in Drug Research* (Vol. 28, pp. 65-180). Elsevier.
- Aniszewski, T. (2007). Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. *Alkaloids - Secrets of Life*.
- Anthony C. Cemaluk, E., & Osuji, C. (2016). Proximate Compositions and Antibacterial Activity of *Citrus sinensis* (Sweet Orange) Peel and Seed Extracts. *European Journal of Medicinal Plants*, 12, 1-7.
- AOAC. (1990). Official methods of analysis. In: *Aoac Washington, DC*.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89(1), 27-36.
- Bachès, B., Bachès, M. (2011). *Agrumes, nouvelle*. Edition ULMER : 7127.
- Bagchi, D., Sen, C. K., Bagchi, M., & Atalay, M. (2004). Anti-angiogenic, Antioxidant, and Anti-carcinogenic Properties of a Novel Anthocyanin-Rich Berry Extract Formula. *Biochemistry (Moscow)*, 69(1), 75-80.

- Barros de Moraes, H. R., de Castro Ferreira, T. A. P., & Genovese, M. I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*, 134(4), 1892-1898.
- Bejar, A. K., Ghanem, N., Mihoubi, D., Kechaou, N., & Mihoubi, N. B. (2011). Effect of infrared drying on drying kinetics, color, total phenols and water and oil holding capacities of orange (*Citrus sinensis*) peel and leaves. *International Journal of Food Engineering*, 7(5).
- Benhammou, N. (2006). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des flavonoides de *pistacia lentiscus*, *pistacia atlantica* et *inula viscosa* de la région de Tlemcen Tlemcen, Université Abou Bekr Belkaïd. [Faculté des Science].
- Benmehdi, H. (2000). Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte.
- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822-828.
- Bhattarai, H. D., Paudel, B., Hong, S. G., Lee, H. K., & Yim, J. H. (2008). Thin layer chromatography analysis of antioxidant constituents of lichens from Antarctica. *Journal of natural medicines*, 62(4), 481-484.
- Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires Université d'Avignon].
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie : plantes médicinales*, 3^{ème} édition, technique et documentation. Paris, 299(301), 540.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4^e éd.). Lavoisier.
- Budić-Leto, I., & Lovrić, T. (2002). Identification of phenolic acids and changes in their content during fermentation and ageing of white wines Pošip and Rukatac. *Food Technology and Biotechnology*, 40(3), 221-225.
- Carmona, L., Zacarías, L., & Rodrigo, M. J. (2012). Stimulation of coloration and carotenoid biosynthesis during postharvest storage of 'Navelina' orange fruit at 12 C. *Postharvest Biology and Technology*, 74, 108-117.

- Causse, M. (2007). Chervin C, Mauget JC, Renard C (coord.). Les sources de variabilité des qualités nutritionnelles des fruits et légumes, ch. 2 p 173-235. Combris P, Amiot-Carlin MJ, Caillavet F, Causse M, Dallongeville J, Padilla M, Renard C, Soler LG (éditeurs) Expertise scientifique collective INRA Les fruits et légumes dans l'alimentation Enjeux et déterminants de la consommation, Rapport d'expertise.
- Christianson, D. W. (2008). Unearthing the roots of the terpenome. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12(2), 141-150.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Cunniff, P. (1995). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 16th ed. Arlington, Virginia, USA.
- Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (éd). Paris, p317.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- El-Haci, I., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280-285.
- El-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., HindTazougart, & Bengueddour, R. (2018). SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: *Mentha Spicata L.*
- FAO: Food and Agriculture Organization. Statistical Databasesm (2020).
- Falleh, H., Hafsi, C., Mohsni, I., & Ksouri, R. (2021). Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale : *Verbena officinalis*. *Biologie Aujourd'hui*, 215(3-4), 133-142.
- Fabri, R., Nogueira, M., Braga, F., Coimbra, E., & Scio, E. (2009). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource technology*, 100(1), 428-433.

- Fanciullino, A.-L., Dhuique-Mayer, C., Froelicher, Y., Talón, M., Ollitrault, P., & Morillon, R. (2008). Changes in carotenoid content and biosynthetic gene expression in juice sacs of four orange varieties (*Citrus sinensis*) differing in flesh fruit color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3628-3638.
- Farnsworth, N., Bederka Jr, J., & Moses, M. (1974). Modern approaches for selecting biologically active plants I: CNS depressants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63(3), 457-459.
- Fatine belfekih , Ouafae El Yahyaoui ,Mariam Chleh ,Ella Ould Abdellahi ,Amal Sammama ,L Aicha Lrhorfi and Rachid Bengueddou Screening Phytochimique d'arbutus Unedo L. phytochemical screening of *Arbutus Unedo L.* *American Journal Of Innovative Research And Applied Sciences*. Issn 2429-5396.
- Fernández-López, J., Fernández-Ginés, J., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., & Pérez-Alvarez, J. (2004). Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3-4), 176-185.
- Fidrianny, I., Puspitaningrum, D. A., & Ruslan, K. (2016). Antioxidant capacities of various grains extracts of three kinds of rice grown in Central Java-Indonesia. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 8(6), 997-1002.
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., & Orecchioni, A. (2001). *Le préparateur en pharmacie dossier*. 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275.
- Gotmare, S., & Gade, J. (2018). Orange peel: A potential source of phytochemical compounds. *Int. J. ChemTech Res*, 11, 240-243.
- Goudeau, D., Uratsu, S. L., Inoue, K., Goes daSilva, F., Leslie, A., Cook, D., Reagan, R. L., & Dandekar, A. M. (2008). Tuning the orchestra: Selective gene regulation and orange fruit quality. *Plant Science*, 174(3), 310-320.
- Goulas, V., & Manganaris, G. A. (2012). Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*, 131(1), 39-47.
- He, D., Shan, Y., Wu, Y., Liu, G., Chen, B., & Yao, S. (2011). Simultaneous determination of flavanones, hydroxycinnamic acids and alkaloids in citrus fruits by HPLC-DAD–ESI/MS. *Food Chemistry*, 127(2), 880-885.

- Hennebelle, T. (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants : *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées)
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- Hopkins, W. G. (2003). *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur.
- ISO 659. (1988). Graines oléagineuses – détermination de la teneur en huile. International Organisation for Standardization (ISO). Geneva.
- Jucá, M. M., Cysne Filho, F. M. S., de Almeida, J. C., Mesquita, D. d. S., Barriga, J. R. d. M., Dias, K. C. F., Barbosa, T. M., Vasconcelos, L. C., Leal, L. K. A. M., Ribeiro, J. E., & Vasconcelos, S. M. M. (2020). Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural Product Research*, 34(5), 692-705.
- Kanoun, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire magister, Université Aboubekr Belkaid–Tlemcen, 2, 95.
- Khanbabae, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins : classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.
- Lagha-Benamrouche, S., Addar, L., Boudershem, H., Tani, S., & Madani, K. (2018). Caractérisations chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles. *Revue Nature et Technologie*, 10(1), 112-115.
- Lagha-Benamrouche, S., & Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50, 723-730.
- Li, Y., Lai, P., Chen, J., Shen, H., Tang, B., Wu, L., & Weng, M. (2016). Extraction optimization of polyphenols, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities from *Prunus salicina* Lindl. *Food Science and Technology*, 36, 520-525.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.

Lohrasbi, M., Pourbafrani, M., Niklasson, C., & Taherzadeh, M. J. (2010). Process design and economic analysis of a citrus waste biorefinery with biofuels and limonene as products. *Bioresource technology*, 101(19), 7382-7388.

M. Naik, P., & M. Al Khayri, J. (2016). Impact of Abiotic Elicitors on In vitro Production of Plant Secondary Metabolites: A Review. *Journal of Advanced Research in Biotechnology*, 1(2), 1-7.

M'hiri, N., Ioannou, I., Ghoul, M., & Boudhrioua, N. M. (2014). Extraction methods of citrus peel phenolic compounds. *Food Reviews International*, 30(4), 265-290.

M'hiri, N., Ioannou, I., Ghoul, M., & Boudhrioua, N. M. (2015). Proximate chemical composition of orange peel and variation of phenols and antioxidant activity during convective air drying. *Journal of New Sciences*.

M'hiri, N., Ioannou, I., Ghoul, M., & Mihoubi Boudhrioua, N. (2017). Phytochemical characteristics of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: A review. *Food Reviews International*, 33(6), 587-619.

Ma Y. Q., Chen J. C., Liu D. H., Ye X. Q., (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1): 57-62.

Maisuthisakul, P., Suttajit, M., & Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100(4), 1409-1418.

Majhenič, L., Škerget, M., & Knez, Ž. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104(3), 1258-1268.

Majjob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Res*, 2, 77-82.

Maleš, Ž., & Medić-Šarić, M. (2001). Optimization of TLC analysis of flavonoids and phenolic acids of *Helleborus atrorubens* Waldst. et Kit. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 24(3), 353-359.

Marín, F. R., Soler-Rivas, C., Benavente-García, O., Castillo, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100(2), 736-741.

- Markham, K.R. (1982) Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, London.
- Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U.-P. (2007). Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 7(10), 2080-2095.
- Mathew, B. B., Jatawa, S. K., & Tiwari, A. (2012). Phytochemical analysis of Citrus limonum pulp and peel. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(2), 369-371.
- Menat, É. (2006). Les polyphénols de thé, du vin et du cacao. *Phytothérapie*, 4(1), hs40-hs45.
- Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale (16). Bahaeddine. Algérie, 11, 394-397.
- Milind, P., & Dev, C. (2012). Orange: range of benefits. *International research journal of pharmacy*, 3(7), 59-63.
- Molan, A.-L., Ismail, M. H., & Nsaif, R. H. (2016). Phenolic contents and antioxidant activity of peels and seeds of orange (*Citrus sinensis*) cultivated in Iraq. *World J Pharm Pharm Sci*, 5(4), 473-482.
- Moulehi, I., Bourgou, S., Ourghemmi, I., & Tounsi, M. S. (2012). Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. *Industrial Crops and Products*, 39, 74-80.
- Morot-Gaudry, J.-F. (2016). Les végétaux, un nouveau pétrole ? 1-160.
- Ncube, B., Finnie, J., & Staden, J. (2012). Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 82, 11-20.
- Oloyede, O. (2005). Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 4(6), 379-381.
- Omulokoli, E., Khan, B., & Chhabra, S. C. (1997). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 56(2), 133-137.
- Özcan MM, Ghafoor K, Al Juhaimi F, Uslu N, Babiker EE, Mohamed Ahmed IA, Almusallam IA. Influence of drying techniques on bioactive properties, phenolic compounds and fatty acid compositions of dried lemon and orange peel powders. *Journal of food science and technology*. 2021 Jan;58(1):147-58.

- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.
- Park, H, Lee, S., Son, H., Park, S., Kim, M., Choi, E., Singh, T. S. K., Ha, J., Lee, M.-G., Kim, J., Hyun, M. C., Kwon, T. K., Kim, Y. H., & Kim, S. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Archives of Pharmacal Research*, 31(10), 1303-1311.
- Peri, C., & Pompei, C. (1971). Estimation of different phenolic groups in vegetable extracts. *Phytochemistry*, 10(9), 2187-2189.
- Pichaiyongvongdee, S., Rattanapun, B., & Haruenkit, R. (2014). Total polyphenol content and antioxidant properties in different tissues of seven pomelo (*Citrus grandis* (L.) osbeck) cultivars. *Agriculture and Natural Resources*, 48(6), 989-996.
- Piriyaarasarth, S., & Sriamornsak, P. (2011). Flocculating and suspending properties of commercial citrus pectin and pectin extracted from pomelo (*Citrus maxima*) peel. *Carbohydrate polymers*, 83(2), 561-568.
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S., Bashir, N., Nazir, F., & Nayik, G. A. (2018). Citrus peel as a source functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 351-358.
- Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1720-1731.
- Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., & Aruoma, O. I. (2010). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278(1), 75-87.
- Rizk, A. (1982). Constituents of plants growing in Qatar. I. a chemical survey of sixty plants. *Fitoterapia*.
- Ruiz, G. (2005). Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges Limoges.
- Salas, M. P., Céliz, G., Geronazzo, H., Daz, M., & Resnik, S. L. (2011). Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124(4), 1411-1415.
- Samouelian, F., Gaudin, V., & Boccara, M. (2009). *Génétique moléculaire des plantes*. Editions Quae.

- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658.
- Selmi, S., Rtibi, K., Grami, D., Sebai, H., & Marzouki, L. (2017). Protective effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel aqueous extract and hesperidin on oxidative stress and peptic ulcer induced by alcohol in rat. *Lipids in health and disease*, 16(1), 1-12.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191-198.
- Socaciu, C. (2007). *Food colorants: chemical and functional properties*. CRC Press.
- Sonia, C., & Jean, C. (2011). *Polyphénols et procédés*. Lavoisier.
- Teh, S., Bekhit, A. E., & Birch, J. (2014). Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. *Antioxidants*, 3(1), 67-80.
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc.
- Trease E et Evans W.C. (1987). *Pharmacognosy. Billiare*. Tindall. London 13th Ed. pp:61-62.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds. In *Phenolic compound biochemistry* (pp. 151-196). Springer.
- Vincken, J., Heng, L., de Groot, A., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3), 275-297.
- Waheed, A., Mahmud, S., Saleem, M., & Ahmad, T. (2009). Fatty acid composition of neutral lipid: Classes of Citrus seed oil. *Journal of Saudi Chemical Society*, 13(3), 269-272.
- Wang, Y.-C., Chuang, Y.-C., & Ku, Y.-H. (2007). Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, 102(4), 1163-1171.
- Wang, T., Li, Q., & Bi, K. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12-23.

Xu, L., Zhao, X., Wu, Y., & Zhang, W. (2015). The study on biological and pharmacological activity of coumarins. 2015 Asia-Pacific Energy Equipment Engineering Research Conference,

Zulkifli, K. S., Abdullah, N., Abdullah, A., Aziman, N., & Kamarudin, W. (2012). Bioactive phenolic compounds and antioxidant activity of selected fruit peels. Int. Conf. Environ. Chem. Bio

المخلص

يعتبر البرتقال من الفاكهة التي يستهلكها الجزائريون على نطاق واسع سواء على شكلها الطازج أو بعد التصنيع، حيث يتم التخلص من قشرتها بكميات كبيرة. الهدف من دراستنا هو المساهمة بتقييم القيمة الغذائية للحاء (فحص الايضات الأولية) والقوة المضادة للأكسدة في الايضات الثانوية.

تم تحديد محتوى الماء، والتحليل الكيمياء النباتية، وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، والاختبارات الكمية: تحديد المستقلبات الأولية، وتحديد البوليفينول الإجمالي وقوة مضادات الأكسدة وفقاً للبروتوكولات التجريبية المعدلة على المادة الجافة و / أو المستخلص الإيثانولي والمائي لحاء الحمضيات الصينية من صنف طومسون. النتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن وجود مركبات الفلافونويد والتانينز والكومارين والستيرول والتربينات والسكريات المختزلة والصمغ والنشا والقلويدات والبروتينات وغياب الأنثوسيانين والسابونوزيدات والكينون والأنثراكينون.

محتوى الرطوبة والسكريات الكلية والبروتينات والدهون موجودة بنسب مئوية $6.35 \pm 0.5\%$ ؛ $9.6 \pm 0.2\%$ ؛ $8.75 \pm 0.15\%$ ؛ $2.64 \pm 0.36\%$ على التوالي. إجمالي البوليفينول موجود عند مستوى 0.05 ± 38.4 ملغ و 20.2 ± 0.01 mg EAG / g من المادة الجافة في المستخلص المائي والمستخلص الإيثانولي على التوالي، والتي تكون قوتها المضادة للأكسدة مساوية نسبياً لقوة حمض الأسكوربيك. أظهرت الدراسة الإحصائية لنتائجنا وجود علاقة جيدة جداً بين نشاط الاحتجاز الجذري لـ DPPH ومحتوى البوليفينول الكلي للحاء ($R^2=0,730$)

يشير كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إلى وجود مركبات من نوع الفلافونويد وحمض الفينول والكشف عن لوحة CCM بواسطة DPPH أن فئة الفلافون وجليكوسيدات الفلافانول لديها أفضل نشاط مضاد للأكسدة.

تظهر نتائجنا أن قشر البرتقال هو إمكانية واعدة للغاية لاستخدامه كبقايا غنية جداً بالجزئيات النشطة بيولوجياً ذات القيمة الغذائية الملحوظة التي يمكن استخدامها في مجالات الأغذية الزراعية أو الأدوية أو مستحضرات التجميل.

الكلمات المفتاحية: *Citrus sinensis*، الحاء، التحليل الكيمياء النباتي، البوليفينول، CCM، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé :

L'orange est un fruit largement consommé par la population algérienne soit sous sa forme frais ou après transformation, où l'écorce est jetée en grande quantité. L'objectif de notre étude est la contribution à l'évaluation de la valeur nutritionnelle de l'écorce (dosage des métabolites primaires) et le pouvoir antioxydant de ses métabolites secondaires.

La détermination de la teneur en eau, les tests phytochimiques, la chromatographie sur couche mince et les tests quantitatifs : le dosage des métabolites primaires, le dosage des polyphénols totaux et le pouvoir antioxydant selon des protocoles expérimentaux adaptés ont été réalisés sur la matière sèche et /ou l'extrait éthanolique et aqueux de l'écorce de *Citrus sinensis* de la variété Thomson navel.

Les résultats obtenus révèlent la présence des flavonoïdes, des tanins, coumarines, des stérols et terpènes, des sucres réducteurs, des mucilages, de l'amidon, des alcaloïdes, des protéines et l'absence des anthocyanes, saponosides, quinones et anthraquinones.

Le taux d'humidité, les sucres totaux, les protéines et les lipides sont présents à des pourcentages de $6.35 \pm 0.5\%$; $9.6 \pm 0.2\%$; $8.75 \pm 0.15\%$; $2.64 \pm 0.36\%$, respectivement. Les polyphénols totaux sont présents à une teneur de 38.4 ± 0.05 mg et 20.2 ± 0.01 mg EAG/gde matière sèche dans l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique, respectivement, dont le pouvoir antioxydant est relativement égale à celle de l'acide ascorbique. L'étude statistique de nos résultats a montré une très bonne corrélation entre l'activité de piégeage du radical DPPH et la teneur en polyphénols totaux de l'écorce ($R^2= 0,730$).

La chromatographie sur couche mince (CCM) indique la présence des composés de types flavonoïdes et de l'acide phénolique et la révélation de la plaque CCM par le DPPH a montré que la classe des flavones et flavanols glycosides possède la meilleure activité antioxydante.

Nos résultats montrent que les écorces d'oranges sont un potentiel très prometteur à valoriser en tant que résidu très riche en molécules bioactives avec une valeur nutritionnelle marquée pouvant l'utiliser dans les domaines agroalimentaires, pharmaceutique ou cosmétique.

Mots clés : *Citrus sinensis*, écorce, test phytochimique, polyphénols, CCM, activité antioxydante.

Abstract:

Orange is a fruit widely consumed by the Algerian population either in its fresh form or after processing, where the bark is discarded in large quantities. The purpose of our study is the assessment of the nutritional value of the bark (determination of primary metabolites) and the antioxidant power of its secondary metabolites.

Determination of water content, phytochemical tests, thin-layer chromatography and quantitative tests: determination of primary metabolites, determination of total polyphenols and the antioxidant power according to suitable experimental protocols have been achieved on the dry matter and/or the ethanolic and aqueous extract of the bark of *Citrus sinensis* of the variety Thomson navel.

The results obtained reveal the presence of flavonoids, tannins, coumarins, sterols and terpenes, reducing sugars, mucilages, starch, alkaloids, proteins and absence of anthocyanins, saponosides, quinones and anthraquinones.

Moisture content, total sugars, proteins and lipids are present at percentages of $6.35 \pm 0.5\%$; $9.6 \pm 0.2\%$; $8.75 \pm 0.15\%$; $2.64 \pm 0.36\%$, respectively. Total polyphenols are present at 38.4 ± 0.05 mg and 20.2 ± 0.01 mg GAE/g of dry matter in aqueous extract and ethanolic extract, respectively, whose antioxidant power is relatively equal to that of ascorbic acid. The statistical study of our results showed a very good correlation between the trapping activity of the radical DPPH and the total polyphenols content of the bark ($R^2= 0.730$).

Thin Layer Chromatography (TLC) indicates the presence of flavonoid-type compounds and phenolic acid and the revelation of the CCM plate by DPPH showed that the flavones and flavanols glycosides class has the best antioxidant activity.

Our results show that orange peel is a very promising potential to be used as a residue very rich in bioactive molecules with a marked nutritional value that can be used in food, pharmaceutical or cosmetic fields.

Keywords: *Citrus sinensis*, peel, chemical composition, phytochemical test, polyphenols, TLC, antioxidant activity.