

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Abou Bekr Belkaïd –Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre Et de l'Univers
Département de Biologie



Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité Biologique

MÉMOIRE

Présenté par :

M^{elle} KORAIB Marwa

M^{elle} METALSI Marwa

En vue de l'obtention du
Diplôme de MASTER
En : Sciences Biologiques
Option : Biochimie appliquée

Thème

Screening phytochimique et évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits des écorces du citron et des oranges

Soutenu le 10 / 07 /2024, devant le jury composé de :

Président :	Dr. CHAUCHE Mohamed Tarik	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante :	Pr. BENARIBA Nabila	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice :	Dr. MEDJDOUB Houria	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice :	Dr. ADJDIR Sarra	MAB	Université de Tlemcen

Année universitaire :2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ملخص

استغلال النفايات الغذائية، بالخصوص قشور الحمضيات مثل "*Citrus limon*" و "*Citrus sinensis*" تجد تطبيقات متنوعة في العديد من الصناعات، بما في ذلك الصناعات الغذائية والأغذية الزراعية ومستحضرات التجميل والأدوية. وقد ركزت العديد من الدراسات العلمية على استغلال فوائد هذه المواد المضادة للأكسدة ومضادة لمرض السكر وغيرها.

الهدف الرئيسي لعملانا الحالي هو بحث في المختبر لمضادات الأكسدة والنشاط المضاد لمرض السكر في مستخلصات الإيثانول المائي من القشور الطازجة والمجففة "*Citrus limon*" (الليمون) و "*Citrus sinensis*" (البرتقال) وخليطها.

وأظهر الفحص الكيميائي النباتي غنى المستخلصات الستة بالعفص والفلافونويد والكينونات الحرة والصابونين والمركبات المختزلة. تحدد جرعة المركبات الفينولية مستوى عالٍ من مادة البوليفينول و المجموع الفلافونويد (67.51 ميكروغرام مكافئ حمض غالليك /ميلي غرام؛ 26.46 ميكروغرام مكافئ حمض كاتيشين /ميلي غرام على التوالي في مستخلص قشور الليمون الطازج؛ و87.04 ميكروغرام مكافئ حمض كاتيشين /ميلي غرام من العفص في مستخلص قشور برتقال الليمون المجففة.

كشفت نتائج النشاط المضاد للأكسدة عن نشاط قوي مضاد للجذور على DPPH ولا سيما مستخلص خليط قشور الليمون والبرتقال الطازجة الذي وصل إلى (IC₅₀=28.05 ميكروغرام/مل)، بالإضافة إلى قوة ارجاع الحديد المثيرة للاهتمام (= 642.2950EC ميكروغرام/مل). وفيما يتعلق بالنشاط المضاد لمرض السكر، فإن مستخلص الماء والإيثانول من القشور الطازجة لخليط الليمون والبرتقال أظهر تأثيراً مثبطاً مثيراً للاهتمام على نشاط ألفا أميليز مقارنة بالمستخلصات الأخرى، حيث بلغت قيمة IC₅₀=253.1250 ميكروغرام/مل. حيث أن جميع المستخلصات المدروسة أظهرت تأثيراً ضعيفاً جداً على قدرة امتصاص الجلوكوز، على عكس حامض الغالليك والأكاربوز اللذين أظهرتا تأثيراً مهماً جداً في امتصاص الجلوكوز.

وفي ضوء هذه النتائج الأولية، لاحظنا ضرورة استغلال الخصائص العلاجية لبقايا قشور الحمضيات الطازجة، ولا سيما نشاطها المضاد للأكسدة والمضاد لمرض السكر.

الكلمات الدالة: قشور الليمون، قشور البرتقال، المركبات الفينولية، DPPH، FRAP، ألفا أميليز، امتصاص الجلوكوز.

Résumé

La valorisation des déchets alimentaires, en particulier les écorces d'agrumes tels que "*Citrus limon*" et "*Citrus sinensis*", trouvent des applications variées dans plusieurs industries, notamment l'industrie alimentaire, agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. De nombreux travaux scientifiques se sont intéressés à exploiter les propriétés antioxydantes, antidiabétiques et autres bienfaits de ces matériaux.

L'objectif principal de notre présent travail consiste à la recherche in vitro de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits eau-éthanol des écorces frais et séchés de *Citrus limon* (le citron), de *Citrus sinensis* (l'orange) et leur mélange.

Le screening phytochimique a montré la richesse des six extraits en tanins, flavonoïdes, quinones libres, saponines et composé réducteur. Le dosage des composés phénoliques a déterminé un taux élevé en polyphénols totaux, et en flavonoïdes ($67,51 \mu\text{g EGA}/\text{mg E}$; $26,46 \mu\text{g EC}/\text{mg E}$, respectivement dans l'extrait des écorces frais du citron ; et $87,04 \mu\text{g EC}/\text{mg E}$ de tanins dans l'extrait des écorces séchés de l'orange.

Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé une forte activité antiradicalaire sur le DPPH en particulier l'extrait du mélange des écorces frais citron-orange qui arrive à une $\text{IC}_{50}=28,05 \mu\text{g}/\text{mL}$, ainsi qu'un pouvoir réducteur du fer intéressant ($\text{EC}_{50}=642,29 \mu\text{g}/\text{mL}$). Concernant l'activité antidiabétique, l'extrait eau-éthanol des écorces frais du mélange citron-orange a montré un effet inhibiteur de l'activité α -amylase très intéressant par rapport aux autres extraits, avec une valeur IC_{50} de $253,12 \mu\text{g}/\text{mL}$. Tandis que, l'ensemble des extraits étudiés ont présenté un très faible effet sur la capacité d'adsorption au glucose, contrairement à l'acide gallique et l'acarbose qui ont montrés un effet adsorbant au glucose très important.

A la lumière de ces résultats préliminaires, nous avons constaté la nécessité d'exploiter les propriétés thérapeutiques des résidus des écorces frais d'agrumes, notamment leurs activités antioxydantes et antidiabétiques.

Mots clés : résidus du citron, résidus des oranges, composés phénoliques, DPPH, FRAP, α -amylase, adsorption au glucose.

Abstract

The valorization of food waste, in particular the peels of citrus fruits such as "Citrus limon" and "Citrus sinensis", have a variety of applications in several industries, including the food, agri-food, cosmetics and pharmaceutical industries. Numerous scientific studies have focused on exploiting the antioxidant, anti-diabetic and other beneficial properties of these materials.

The main objective of our present work is to investigate in vitro the antioxidant and antidiabetic activity of water-ethanol extracts of fresh and dried peels of Citrus limon (lemon), Citrus sinensis (orange) and their mixture.

Phytochemical screening showed the six extracts to be rich in tannins, flavonoids, free quinones, saponins and reducing compounds. Phenolic compound assays determined high levels of total polyphenols and flavonoids (67.51 μ g EGA/mg E; 26.46 μ g EC/mg E, respectively in fresh lemon peel extract; and 87.04 μ g EC/mg E of tannins in dried orange peel extract.

Results for antioxidant activity revealed strong free radical scavenging activity on DPPH, in particular for the extract of the fresh lemon-orange peel blend, which achieved an IC₅₀=28.05 μ g/mL, as well as an interesting iron-reducing capacity (EC₅₀=642.29 μ g/mL). With regard to anti-diabetic activity, the water-ethanol extract of the fresh peel of the lemon-orange mixture showed a very interesting inhibitory effect on α -amylase activity compared with the other extracts, with an IC₅₀ value of 253.12 μ g/mL. Whereas, all the extracts studied showed a very weak effect on glucose adsorption capacity, unlike gallic acid and acarbose which showed a very significant glucose adsorption effect.

In the light of these preliminary results, we saw the need to exploit the therapeutic properties of fresh citrus peel residues, notably their antioxidant and anti-diabetic activities.

Keywords : lemon residues, orange residues, phenolic compounds, DPPH, FRAP, α -amylase, glucose adsorption.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier **Dieu** de tout cœur pour m'avoir donné la force, la sagesse et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce modeste travail.

Nos sincères remerciements à mon encadrant, **Pr. BENARIBA Nabila**, professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour ses compétences, ses conseils précieux, ses orientations, sa disponibilité, sa compréhension, et sa gentillesse ont été d'un soutien inestimable. Sans ses qualités scientifiques et humaines, ce travail n'aurait pas pu être mené à bien. Merci infiniment pour votre encadrement et votre confiance. Veuillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre grand respect.

Nous tenons à remercier chaleureusement **Dr. Chaouche Mohammed Tarik**, Maître de conférences Classe A, et chef du département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, de nous avoir fait honneur de présider le jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements, et de notre grand respect.

Nos remerciements s'adressant également au **Dr. Medjdoub Houria**, Maître de Conférences Classe B au département de biologie à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail. Je vous présente mon grand respect et l'expression de ma profonde reconnaissance.

Nous tenons également à remercier **Dr. Adjdir Sarra**, Maître de Conférences Classe B au département de biologie à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez bien recevoir nos profonds remerciements et respects. Je vous présente mon grand respect.

Nos sincères remerciements s'adressent à **Mme Fekhikher Zohra ; Mme Brixi Gormat Radia**, doctorantes en biochimie pour leur aide, leur présence, leur gentillesse et leurs précieux conseils au cours de la réalisation de la partie expérimentale du travail.

Nous remercions également **Mme Zazoua Leila** et **Mr Habi Salim**, les ingénieurs des laboratoires de pédagogies pôle de biochimie au département de biologie, pour nous avoir

bien accueillis, pour leur disponibilité et pour leurs conseils au cours de la réalisation de ce travail.

Nos remerciements toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

"Je souhaite tout d'abord remercier Dieu le Tout-Puissant qui m'a accordé le courage et la patience, et qui a illuminé mon chemin pour achever ce travail."

Je dédie ce travail aux êtres les plus chers et les plus précieux de cet univers, ma mère et mon père, dont l'amour inconditionnel, les sacrifices et le soutien indéfectible ont façonné la personne que je suis aujourd'hui.

À mes frères qui ont partagé avec moi la joie de mon succès, avec mes meilleurs vœux pour leur réussite dans leur vie : Siham, Wafaa, Ayman et Issam, ainsi qu'aux enfants de mes sœurs : Abdel Bassir, Âlaa, Mohammed, et Chahd, que Dieu les protège.

À ma très chère binôme Métalsi Marwa qui a fourni des efforts pour que nous puissions réaliser ce travail, mes vœux de succès.

À tous mes proches et amis qui m'ont accompagné dans mon parcours scolaire.

À tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près durant ce mémoire.

Aux étudiants de la promotion biochimie appliquée 2023/2024.

Koraib Marwa

Dédicace

Avant tout je remercie Dieu tout puissant qui m'a donné la volonté et le courage et la patience durant mes 5 ans année d'étude.

À ceux qui m'ont tout donnés sans rien en retour. À ceux qui m'ont encouragés et soutenus dans les moments les plus difficiles et à ceux à qui je suis infiniment redevable,
Mon père, mon ange gardien.

À ma mère, la lumière de ma vie, j'espère qu'un jour mon bon Dieu me donne l'occasion de les honorer et leur rendre ce qu'ils méritent.

À mes deux précieuses sœurs Fadoua et Amaria, Qui ont toujours été là pour moi. Dans les joies comme dans les peines,
Leurs sourires ont illuminé mes jours sombres. Leurs épaules ont porté mes fardeaux.
Je leur dédie toute ma gratitude et mon amour infini.

À ma très chère binôme Koraib Marwa qui a fourni des efforts pour que nous puissions réaliser ce travail.

A toute ma famille et mes proches.

Metalsi Marwa

Liste des Figures

Figure n° 1: Équilibre entre radicaux libres et antioxydants (Belaich et Boujraf, 2016).....	3
Figure n° 2: Feuilles, fleurs et fruits d'orange.	9
Figure n° 3: Feuilles, fleurs et fruits de citron.	10
Figure n° 4: Fruit de Citrus limon avec l'apparence à section transversale (Duan et al. 2014).....	13
Figure n° 5: Coupe transversale de fruit de citrus sinensis (Goudeauet al., 2008).	13
Figure n° 6: Processus de valorisation des déchets (Nawel, 2015).....	16
Figure n° 7: Le matériel végétal utilisé : les écorces de citrus limon frais et séché (a, c) et citrus sinensis frais et séché (b, d).....	23
Figure n° 8: Schéma explicatif du protocole expérimental.....	25
Figure n° 9: Courbe étalon de l'acide gallique ($\mu\text{g/mL}$) pour le dosage des polyphénols..	43
Figure n° 10: Courbe étalon de la catéchine ($\mu\text{g/mL}$) pour le dosage des flavonoïdes (a) et des tanins (b).	43
Figure n° 11: Effet antiradicalaire des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur le DPPH	48
Figure n° 12: Valeurs IC50 de l'effet antiradicalaire des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur le DPPH.....	49
Figure n° 13: Pouvoir réducteur des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur la réduction du fer.	52
Figure n° 14: Valeurs de EC50 du pouvoir réducteur du fer par les extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur la réduction du fer.	53
Figure n° 15: Effet inhibiteur des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α amylase.....	56
Figure n° 16: Valeurs IC50 de l'effet antidiabétique des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α amylase.....	57
Figure n° 17: Capacité d'adsorption au glucose de l'acide gallique et de l'acarbose après 1h d'incubation.....	59

Figure n° 18: Capacité d'adsorption au glucose de l'acide gallique et de l'acarbose après 3h d'incubation.....	59
Figure n° 19: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces fraîches du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 1h d'incubation.....	61
Figure n° 20: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces séchées du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 1h d'incubation.....	61
Figure n° 21: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces fraîches du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 3h d'incubation.....	62
Figure n° 22: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces séchées du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 3h d'incubation.....	62

Liste des Tableaux

Tableau n° 1: Classification des antioxydants (Haleng et al., 2007 ; Hokayem et al., 2012).	5
Tableau n° 2: Les différentes espèces du genre Citrus (Milind et Dev, 2012).	8
Tableau n° 3: Protocole du dosage de polyphénols dans les extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.	28
Tableau n° 4: Dosage de flavonoïde dans les extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.	29
Tableau n° 5: Dosage de tanins dans les extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.	30
Tableau n° 6: Mode opératoire pour mesurer l'activité antiradicalaire du DPPH des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.	32
Tableau n° 7: Mode opératoire de l'activité antiradicalaire des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.	33
Tableau n° 8: Evaluation de l'effet des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché sur l'activité inhibitrice de l' α amylase.....	36
Tableau n° 9: Mode opératoire du test de la capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces de citron, de l'orange et des mélanges à l'état frais et séché.	38
Tableau n° 10: Caractéristiques et rendement des extraits des écorces du citron et de l'orange.....	41
Tableau n° 11: Screening phytochimiques des extraits des écorces du citron et de l'orange fraîches et séchées.	42
Tableau n° 12: Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits des écorces de citron et d'orange.....	45
Tableau n° 13: Effet antiradicalaire de l'acide ascorbique sur le DPPH exprimé en pourcentage.	46
Tableau n° 14: Effet antiradicalaire des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur le DPPH exprimé en pourcentage (%).	47
Tableau n° 15: Absorbances de l'effet du BHA et de l'acide ascorbique sur la réduction du fer.....	50
Tableau n° 16: Absorbances de l'effet des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur la réduction du fer.	51
Tableau n° 17: Effet de l'acarbose sur l'activité de l' α amylase.....	54
Tableau n° 18: Effet inhibiteur des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α amylase exprimé en pourcentage (%). .	55

Liste des abréviations

- **AlCl₃** : Chlorure d'aluminium
- **BHA** : Butyl Hydroxy Anisole
- **DNSA** : Acide 3,5-Dinitrosalicylique
- **DO** : Densité optique.
- **DPPH** : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl.
- **EC₅₀** : concentration efficace médiane
- **Fe²⁺** : Fer Ferreux
- **Fe³⁺** : Fer Ferrique
- **FeCl₃** : Chlorure de fer
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxydant Power
- **GOD** : glucose-oxydase
- **HCl** : Acide Chlorhydrique
- **H₃PMo₁₂O₄₀** : acide phosphomolybdique
- **H₃PW₁₂O₄₀** : acide phosphotungstène
- **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice à 50%.
- **K₃Fe(CN)₆** : Ferricyanure de potassium
- **mM** : milli molaire
- **N** : Normalité
- **NaOH** : hydroxyde de sodium.
- **Na₂CO₃**: Carbonate de sodium
- **NaH₂PO₄** : dihydrogénophosphate de sodium
- **Na₂HPO₄** : hydrogénophosphate de sodium
- **NaNO₂** : nitrite de sodium
- **nm** : nanomètre
- **PBS** : tampon phosphate salé (Phosphat buffer salin)
- **POD** : peroxydase
- **PPA** : Pancréas Du Porc
- **R%** : Rendement En %.
- **TCA** : Acide Trichloracétique
- **v/v** : Volume sur volume.
- **µg** : microgramme
- **µg EAG/mg E** : microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait
- **µg EC/mg E** : microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait
- **4-AF** : 4-aminophénazone

Table de matière

Introduction	4
--------------------	---

Chapitre 01 : Stress oxydatif

1 Le stress oxydative.....	3
1.1 Le radical libre.....	4
1.2 Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	4
1.3 Maladies lies au stress oxydatif.....	5

Chapitre 02 : Généralités sur les agrumes

1 Généralités	8
1.1 <i>Citrus sinensis</i> : description botanique.....	9
1.1.1 Classification botanique (Hequet et al., 2009).....	9
1.1.2 Composition chimique	10
1.2 <i>Citrus limon</i> : Description botanique.....	10
1.2.1 Classification botanique (Goetz, 2014).....	11
1.2.2 Composition chimique	11
2 La structure de l'écorce des <i>citrus</i>	12
2.1 L'écorce d'orange	13
2.1.1 Composition chimique	13
2.1.2 Effet thérapeutiques.....	14
2.2 L'écorce du citron	14
2.2.1 Composition chimique	14
2.2.2 Effet thérapeutiques.....	14
3 La valorisation des sous produit des <i>citrus</i>	15
3.1 Les déchets alimentaires des <i>citrus</i>	17

Matériel et Méthode

1 Étude phytochimique.....	22
1.1 Le matériel végétal	22
1.2 Préparation de l'extrait brut eau-éthanol des écorces fraiches du citron et de	

l'orange	23
1.3 Préparation de l'extrait brut eau-éthanol des écorces séchées du citron et de l'orange	24
1.4 Préparation du mélange de l'extrait eau-éthanol des écorces fraîches et séchées du citron et de l'orange	24
1.5 Calcul du rendement des extraits	26
1.6 Tests phytochimiques des extraits préparés	26
2 Dosage des polyphénols totaux	27
3 Dosage des flavonoïdes	28
4 Dosage des tanins condensés	30
5 Évaluation de l'activité antioxydante des extraits des écorces du citron et de l'orange	31
5.1 Évaluation de l'effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur le piégeage du radical libre DPPH.....	31
5.2 Évaluation de l'effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur la réduction du fer (méthode de FRAP).....	32
6 Évaluation de l'activité antidiabétique des extraits des écorces du citron et de l'orange	34
6.1 Évaluation de l'effet des extraits sur l'activité de l' α amylase.....	34
6.2 Évaluation de la capacité des extraits sur d'adsorption au glucose.....	36
7 Analyse statistique.....	39

Résultats et Interprétation

1 Rendements des extraits des écorces du citron et de l'orange à l'état frais et séché ...	41
2 Screening phytochimiques des extraits	41
3 Taux des composés phénoliques	42
4 Effet antioxydante des extraits des écorces du citron et de l'orange.....	45
4.1 Effet antiradicalaire sur le DPPH	45
4.2 Le pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP).....	50
5 Effet antidiabétique des extraits des écorces du citron et de l'orange.....	53
5.1 Effet sur l'activité de l' α amylase.....	54
5.2 Effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur l'adsorption au glucose	57

Discussion	63
Conclusion	71
Références bibliographiques	73

Introduction

L'augmentation de la population mondiale a entraîné une augmentation de la demande alimentaire et le développement croissant des industries agroalimentaires, ce qui génèrent chaque année de grandes quantités de déchets organiques (**Mrad, 2011**). Les déchets sont les résidus considérés comme inutiles dans le processus de production. Dans un contexte précis, les déchets organiques constituent un élément du cycle de vie. Ces déchets ont notamment des effets néfastes sur l'environnement et la santé publique, c'est pourquoi les écologistes et les biologistes s'intéressent depuis longtemps aux procédés et aux technologies permettant de valoriser les résidus pour obtenir des produits biologiques à haute valeur ajoutée, qui contribuent à limiter la pollution générée par ces déchets industriels (**Boudjema et al., 2009**).

Les agrumes ont été cultivés pendant des milliers d'années et ont joué un rôle important dans l'histoire de l'humanité. Les agrumes contiennent : des citrons, des mandarines, des kumquats, des citrons verts, des mandarines, des oranges et des pamplemousses... (**Nicole et François, 2013**). L'industrie des jus d'agrumes génère chaque année un grand nombre de sous-produits (**Koui et Lamri, 2020**), et compte tenu de la disponibilité des écorces d'agrumes et de leurs riches composants nutritionnels et fonctionnels, elles constituent un substrat très précieux (**Kammoun et al., 2011**).

L'objectif principal de notre présent travail consiste à réaliser une étude phytochimique, ainsi qu'une recherche et une évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits des écorces frais et séchées de *Citrus limon* et *Citrus sinensis*. Le travail expérimental réalisé dans le cadre de cette étude regroupe deux grandes parties. La première partie consiste à préparer des extraits eau-éthanol à partir des écorces de ces deux espèces et à déterminer leurs taux en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins. La deuxième partie est consacrée à l'évaluation *in vitro* du pouvoir antioxydant des extraits préparés en utilisant la méthode du DPPH et de FRAP ainsi que l'évaluation de l'activité antidiabétique en utilisant le test inhibiteur de l'activité de l' α -amylase et le test de la capacité d'adsorption au glucose.

Chapitre 01 : Stress oxydatif

1 Le stress oxydative

Après quelques années, un nouveau concept s'impose dans les sciences biologiques et médicales, est le « stress oxydatif », c'est la position où la cellule ne peut plus contrôler la présence excessive de radicaux libres, une situation qui les chercheurs l'associent à la plupart des maladies humaines (**Favier, 2003**).

Il y a environ 55 ans, suite à la reconnaissance des radicaux libres au sein des systèmes biologiques, Harman et ses collègues ont formulé en 1956 la théorie selon laquelle l'accumulation de lésions moléculaires et cellulaires, attribuables aux radicaux libres oxygénés, pourrait être responsable des processus de vieillissement, pourrait être à l'origine des processus de vieillissement biologique (**Harman, 1956**). Selon (**Sies, 1991**), On définit le stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (ERO) en raison d'un déséquilibre lié soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante, soit à une augmentation de la production d'ERO (**Fetoni et al., 2019**). Selon leur définition, ces radicaux sont des entités chimiques possédant un électron non apparié sur leur couche externe, ce qui leur donne une réactivité chimique élevée (**Migdal and Serres, 2011**).

Il se caractérise par un déséquilibre entre système oxydant (les pro-oxydants) et les défenses antioxydantes de l'organisme (**Haleng et al., 2007**) (**Figure n°01**).



Figure n° 1: Équilibre entre radicaux libres et antioxydants (Belaich et Boujraf, 2016).

1.1 Le radical libre

Est une entité chimique, qu'elle soit sous forme de molécule ou d'atome, caractérisée par la présence d'un électron non apparié (Afonso et al., 2007).

Les radicaux sont des entités moléculaires instables, soit chargées soit neutres, qui manifestent une tendance à acquérir un électron de leur environnement afin d'atteindre un état de stabilité maximal (Rolland, 2004). Les espèces oxygénée sont les composés les plus toxiques (Sosa et al., 2013), qui jouent un rôle d'intermédiaires métaboliques entre l'oxygène et l'eau (Fontaine, 2007). Leur durée de vie varie de quelques nanosecondes à plusieurs heures, dépendant de la stabilité des molécules (Sosa et al., 2013), et ils interviennent dans différents processus physiologiques essentiels (Favier, 2003). L'accumulation excessive de radicaux libres peut devenir toxique, entraînant des dommages significatifs aux membranes cellulaires ainsi qu'aux lipides, protéines et acides nucléiques (Valko et al., 2006).

Selon Pham-Huy et al., (2008), le corps humain dispose de multiples mécanismes pour lutter contre le stress oxydatif en produisant des antioxydants.

Un antioxydant peut être décrit comme une molécule qui, à une concentration faible, peut concurrencer d'autres molécules oxydables et retarder ou prévenir leur oxydation (Rezaie et al., 2007 ; Meziti, 2009). En d'autres termes, les antioxydants sont des substances naturelles et synthétisées ayant la faculté d'éliminer les radicaux libres et d'inhiber les processus d'oxydation (Khizar et al., 2010). Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants, des antioxydants enzymatiques et des antioxydants non-enzymatiques.

1.2 Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques

Ils existent deux formes des antioxydants enzymatiques (ou endogènes) et des antioxydants non-enzymatiques (ou exogènes) (Tableau n°01).

Les antioxydants enzymatiques est un système de défense constitué de trois enzymes distinctes : la catalase la superoxyde dismutase (SOD), et a glutathion peroxydase (GSH-Px). Ces enzymes interviennent de manière complémentaire dans la neutralisation des

radicaux libres, agissant spécifiquement sur le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène, ce qui aboutit à la production finale d'eau et d'oxygène moléculaire (**Lehucher-Michel et al., 2001**).

Les antioxydants non enzymatiques sont constitués de plusieurs composés d'antioxydants qui peuvent réagir directement ou indirectement avec les ERO. La chélation des métaux de transition est un mécanisme indirect qui inhibe la formation du radical hydroxyle, qui est extrêmement toxique (**Koehn et Nyska, 2002**).

Certains antioxydants tels que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), et les caroténoïdes présents dans l'alimentation agissent en capturant les radicaux libres, neutralisant ainsi leur électron non apparié pour les convertir en molécules ou ions stables. Après avoir capturé un électron, la vitamine antioxydante devient temporairement un radical, puis elle est soit décomposée soit rétablie à un état stable par un autre système antioxydant. Par exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, qui à son tour est restaurée par des enzymes comme les ascorbates réductases (**Favier, 2003; Flora, 2009**).

Tableau n° 1: Classification des antioxydants (Haleng et al., 2007 ; Hokayem et al., 2012).

	Antioxydants endogènes	Antioxydants exogènes
Les antioxydants enzymatique	Superoxyde dimustase (SOD)	
	Catalase (CAT)	
	Glutathion peroxydase (Gpx)	
Les antioxydants non enzymatique	Glutathion	Vitamine C
	Acide urique	Vitamine E, « α -tocophérol »
	Nicotinamide adénine Dinucléotidephosphate (NADPH)	Caroténoïde
	Coenzyme Q	Polyphénols
	Albumine, Bilirubine	

1.3 Maladies lies au stress oxydatif

Le stress oxydatif est directement ou indirectement impliquée dans l'installation de plusieurs maladies comme la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires, le diabète sucré, les maladies neurodégénératives, les cancers et la

maladies auto-immunes (**Montagnier et al. 1998**).

Chez les diabétiques, le stress oxydatif est augmenté dans différents tissus et l'hyperglycémie entraîne une génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) intracellulaires, qui prolongent le gradient électrochimique des protons générés dans les chaînes mitochondriales, conduisant à une production excessive d'anion superoxyde, qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène, peuvent endommager les cellules par diverses voies via le stress oxydatif. En l'absence de réponses compensatoires appropriées dans le réseau antioxydant endogène de la cellule, le système sera submergé, conduisant à un déséquilibre redox, aggravant ainsi la situation (**Haleng et al., 2007**). De multiples mécanismes de pathogenèse conduisent à une augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans le développement de complications diabétiques (**Defraigne, 2005**).

Chapitre 02 : Généralités sur les agrumes

1 Généralités

Les agrumes occupent une place unique dans le règne végétal et sont importants en raison de leur forte consommation. Ils sont des ingrédients essentiels dans de nombreux produits culinaires (les jus de fruits, les confitures et les desserts), et ils sont très appréciés dans l'industrie alimentaire en raison de leur saveur distinctive et de leur valeur nutritionnelle. Ils sont très riches en composés bioactifs pertinents pour la santé humaine **(Tripoli et al., 2007)**.

Les agrumes, qui constituent l'ensemble des fruits comestibles du genre *Citrus*, sont originaires d'Asie et se sont répandus dans le bassin méditerranéen lors des échanges commerciaux entre marchands occidentaux. Leur diffusion s'est étendue au XVe siècle ; l'Amérique et l'Afrique tropicale ont introduit différentes variétés d'agrumes en provenance des pays du Nord de la Méditerranée **(Bellabas, 2009)**.

Le mot « agrumes » est dérivé du mot latin « *acrumen* », qui, dans les temps anciens, désignait les arbres aux fruits acides. Les agrumes appartiennent à la famille des Rutacées. Il existe à ce jour pas moins de 900 variétés, avec des longueurs de corps allant de 2 à 10 m. Leurs troncs sont courts et leurs feuilles sont denses et durables, sauf pour le genre *Poncirus*, les principaux genres: le genre *Poncirus*, le genre *Citrus* et le genre *Fortunella*. La plupart des agrumes appartiennent au genre *Citrus* **(Benedicte et Michel, 2011)**.

Le genre « agrumes » comprend de nombreuses espèces comestibles, notamment les oranges, les citrons verts, les pamplemousses et les mandarines **(tableau n°02)**.

Tableau n° 2: Les différentes espèces du genre *Citrus* (Milind et Dev, 2012).

Nom commun	Nom scientifique
Les mandarines	<i>Citrus reticulata</i>
Les clémentines	<i>Citrus clementina</i>
Les oranges	<i>Citrus sinensis</i>
Les citronniers	<i>Citrus limon</i>
Les pomelos	<i>Citrus paradisi</i>

1.1 *Citrus sinensis* : description botanique

L'orange est un arbuste à feuilles persistantes à croissance rapide pouvant atteindre une hauteur de 10 mètres. Ses branches et ses feuilles sont épineuses et mesurent 4 à 10 centimètres de long. On appelle orange douce le fruit des agrumes afin de le différencier du fruit de l'oranger amer. Les fleurs sont blanches et très parfumées, seules ou en groupe. La corolle possède 5 pétales blancs recourbés vers l'arrière. Son fruit met 10 à 12 mois pour murir, de taille moyenne, de forme sphérique, et de couleur caractéristique orange. Il a une baie ronde dont on peut extraire l'essence de fleur d'oranger et l'eau de fleur d'oranger (figure n°02) (Goudeau et al., 2008 ; Colombo, 2004).



Figure n° 2: Feuilles, fleurs et fruits d'orange.

1.1.1 Classification botanique (Hequet et al., 2009)

Citrus sinensis se classe botaniquement de la manière suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophyte (angiosperme)

Classe : Dicotylédone

Ordre : Rutales

Famille : Rutacée

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus sinensis*

1.1.2 Composition chimique

Les oranges sont largement consommées en raison de leur goût excellent, de leur haute valeur nutritive et de leur teneur en molécules bioactives (Wang et al., 2007). Ils contiennent en moyenne 12% de glucides (40 % de saccharose), de la vitamine C (80 mg/100 g), des vitamines B9, P, B1, E, de la provitamine A. Il est également riche en calcium (40 mg/100 g) et en pectine, qui agit comme régulateur du transit intestinal. Ils contiennent une flore mésophile (levures et bactéries lactiques) nécessaire à une bonne digestion (Milind et Andcharvedi, 2012).

1.2 *Citrus limon* : Description botanique

L'arbre du citronnier est un petit arbre (arbuste) vert et parfumé, membre de la famille des Rutacées, sa hauteur peut varier de 2 à 10 mètres, avec 5 à 6 branches principales très épaisses formées sur les branches et une par des racines peu profondes. Le réseau est situé au 80^{ème} centimètre du sol. Les feuilles du citronnier sont des feuilles vertes, alternées et persistantes, visibles à l'œil nu en raison des multiples poches d'essence qu'elles contiennent, et des fruits allongés caractéristiques, qui sont jaune vif à maturité (figure n°03) (FAO 2010 ; Gollouin et Tonelli, 2013).



Figure n° 3: Feuilles, fleurs et fruits de citron.

1.2.1 Classification botanique (Goetz, 2014)

La classification botanique de *Citrus limon* est donnée comme suit :

Règne : plantae

Sous Règne : tracheobionata

Division : magnoliophyta

Classe : magnoliopsida

Ordre : sapindales

Famille : Rutacées

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus limon*

1.2.2 Composition chimique

Le citron est un fruit juteux composé à 90% d'eau, très acide (pH<3). L'acidité provient principalement de l'acide citrique, avec de plus petites quantités d'acides malique, caféique et férulique (**Pierre et al., 2001**). Le fruit contient des niveaux élevés de vitamine C (40 à 50 mg/100 g) et vitamines B, ainsi que des quantités importantes de flavonoïdes. Ce fruit est faible en glucides mais contient 2,1% de fibres (cellulose, hémicellulose et pectine), et 1g/100g de protéines. Une variété de minéraux ont été identifiés dans les citrons avec une concentration de 0,5 g/100 g, parmi lesquels le potassium est le minéral le plus abondant. L'arôme du citron provient des huiles essentielles (HE) abondantes présentes dans les vacuoles de l'écorce ; c'est un mélange de limonène, de citral, de citronellal et de coumarine (**Pierre et al., 2001**).

Le secteur agro-industriel génère d'importantes quantités de déchets d'agrumes. Ces derniers constituent une nuisance certaine pour l'environnement et un gaspillage de matières organiques utiles (**Bouزيد et al., 2019**).

Ces déchets, peuvent créer des problèmes écologiques, en particulier la pollution de l'eau, puisque la présence des matières biologiques dans les écorces d'oranges comme les huiles essentielles, les pectines, aussi bien que les sucres, stimulent les bactéries aérobies qui

décomposent les composés organiques biodégradables en produits tels que l'anhydride carbonique, les nitrates, les sulfates et les phosphates dans l'eau. Ces déchets pourraient être transformés en capitaux, si des bio-produits potentiellement commercialisables tel que la pectine peut être extraite à partir des écorces et fruits de faibles valeurs marchandes ; les déchets après extraction, peuvent être vendus sous forme d'alimentation de bétails sèche après enrichissement en protéine. Cette activité annexe réduirait aussi la charge de pollution de l'environnement **(Bouziid et al., 2019)**.

2 La structure de l' écorce des *Citrus*

L'épicarpe (flavedo) est la peau ou l'écorce externe rugueuse solide qui constitue la surface externe du fruit et recouvre le fruit et le protège des dommages. La couleur est vive (jaune à orange) car les pigments caroténoïde représentent 8 à 10% du fruit. Il contient de nombreuses glandes qui sécrètent des essences aromatiques irrégulièrement réparties et qui confèrent au fruit son odeur unique. Ces glandes sont des poches entourées de plusieurs couches de cellules sécrétoires dont la formation implique des cellules épidermiques et des nodules méristématiques superficiels **(Guimarães, 2010)**.

Le mésocarpe (albédo) est une couche interne blanche à structure spongieuse plus ou moins épaisse par rapport à la taille du fruit et représente 12 à 30% du fruit. Cette partie est riche en pectine. Il est étroitement apparenté à l'exocarpe qui forme ce que l'on appelle communément l'écorce des agrumes **(Huet, 1992 ; Albagnac, 2002 ; Bennici et al., 2004 ; Ramful et al., 2010 ; Guimarães, 2010)**.

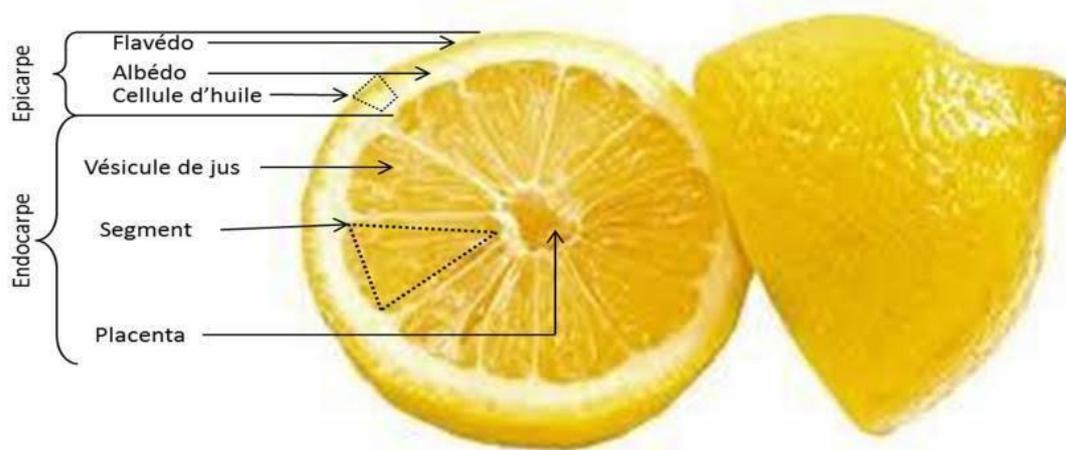


Figure n° 4: Fruit de *Citrus limon* avec l'apparence à section transversale (Duan et al. 2014).

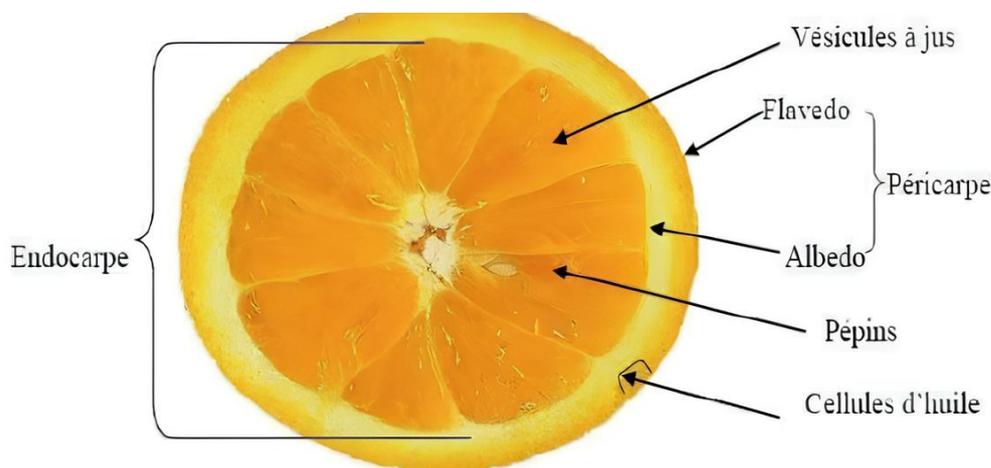


Figure n° 5: Coupe transversale de fruit de *Citrus sinensis* (Goudeauet al., 2008).

2.1 L'écorce d'orange

2.1.1 Composition chimique

Les principaux composants de l'écorce d'orange sont le glucose, le fructose, le saccharose. Le saccharose et le glucose sont les principaux sucres présents dans les stades précoces et matures de l'écorce (Grohmann et al., 1995 ; Bicu et Mustata, 2011). L'amidon est très présent dans l'albédo, mais il est aussi présent dans le flavédo lorsqu'il est vert (Ladaniya, 2008). Il a été rapporté que les écorces d'agrumes constituent généralement une bonne source de pectine et de fibres alimentaires, avec un rapport équilibré de fractions solubles

et insolubles (Larrauri et al., 1996 ; Kuljarachanan et al., 2009).

Les principaux composants de l'écorce d'orange sont les flavonoïdes, les anthocyanes, les caroténoïdes et les huiles essentielles. Il contient également d'autres composés tels que les minéraux et de petites quantités de lipides et de protéines (Lu et al., 2009).

2.1.2 Effet thérapeutiques

Le fruit et la peau ont été utilisés pour prévenir diverses affections telles que les maux de tête et les maladies chroniques telles que le diabète. En revanche, ils jouent un rôle important dans la lutte contre la prolifération des micro-organismes. Le fruit est considéré également comme un puissant antioxydant et un agent hypotenseur. L'écorce est également utilisée pour tuer les larves de moustiques. La pulpe d'orange fraîche est utilisée pour traiter les affections cutanées : acné, soins du visage (Ibelhoulen et Tighzert, 2016 ; Valnet, 2001).

2.2 L'écorce du citron

2.2.1 Composition chimique

L'écorce de citron contient des matières grasses brutes (4,98%), des fibres brutes (15,18%) et la pectine. L'arôme du citron provient de la richesse en huile essentielle des vacuoles de l'écorce, qui est un mélange de limonène, de citral, de citronellal et de coumarine. L'acide citrique est l'acide organique le plus abondant dans les citrons, avec une teneur de 5 à 6 g/100 mL (Asma et Djouadi Djihane, 2021).

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre *Citrus* sont riches en principes actifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, utilisés à des fins thérapeutiques ou dans les domaines cosmétiques et alimentaires (Kahkonen et al., 1999; Shohaib et al., 2011).

2.2.2 Effet thérapeutiques

Les sous-produits du citron tels que l'écorce et les graines sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les maladies dégénératives telles que le diabète et l'hypertension

(Oboh, 2012). Le fruit et l'écorce du citron sont utilisés depuis longtemps pour traiter des maladies telles que le rhume, la grippe, les maux de gorge, la fièvre, etc. C'est un agent antiscorbutique et un désinfectant important et a été utilisé dans la préparation de traitements chirurgicaux et dermatologiques pour certaines peaux. Les maladies peuvent également être utilisées comme antidote à divers poisons, notamment les morsures de scorpion. De plus, il est utilisé pour prévenir les nausées et les vomissements pendant la grossesse, arrêter les saignements de nez, combattre les caillots sanguins, et est également considéré comme un tonique corporel et un stimulant de l'appétit (Virbel-Alonso, 2011). Le citron a été utilisé pour traiter l'insomnie, l'asthme et dissoudre les cristaux rénaux (Okwu et Emenik, 2006). Il assure une activité antibactérienne, anti-inflammatoire, antioxydante et anticancéreuse, comme il peut réduire la tension artérielle et traiter l'obésité (Del-Caro et al., 2004 ; Ramful et al., 2011).

3 La valorisation des sous produit des *Citrus*

C'est le processus de création de la valeur à partir des déchets, en fabriquant un produit adapté pour l'utilisation économique et sociale. Ce processus est réalisé par des méthodes chimiques et biotechnologiques en ce qui concerne les déchets alimentaires et les sous-produits de transformation des aliments (Chandrasekaran, 2013).

L'agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie (ADEME) définit la valorisation comme "le réemploi, le recyclage ou toute autre action visant à obtenir, à partir de déchets, des matériaux réutilisables ou de l'énergie". Selon la loi algérienne N°01-19 du 12/12/2001 relative à la gestion, au contrôle et à l'élimination des déchets, la valorisation des déchets est toutes les opérations de réutilisation, de recyclage ou de compostage des déchets.

La valorisation présente toute transformation de résidus ou de sous-produits industriels ou alimentaires en vue de les réintroduire sur le marché à titre de nouveaux ingrédients ou comme nouveaux produits (Boucherba, 2015). Le processus de valorisation des déchets de quelques résidus est illustré dans la figure n°06.

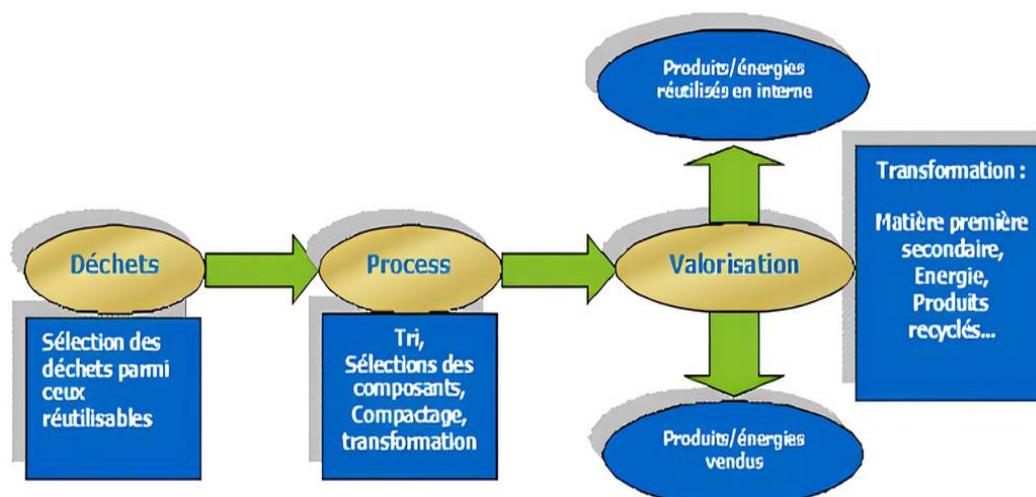


Figure n° 6: Processus de valorisation des déchets (Nawel, 2015).

Le recyclage des déchets peut réduire la quantité de déchets finaux, réduire le potentiel de contamination des déchets dans des conditions contrôlées, résoudre les problèmes de contamination, améliorer les propriétés agronomiques des matières organiques et réduire leurs impacts environnementaux et sanitaires (Guillou, 2013). La valorisation est également très importante d'un point de vue économique. Selon la valorisation, il est possible de donner une valeur économique à des matériaux anciens, d'économiser des matières premières (aliments sous forme de compléments alimentaires dans l'alimentation animale) ou d'économiser de l'énergie (déchets de fruits et légumes utilisés pour produire du méthane), voire de produire de nouveaux matériaux ou produits de qualité égale ou supérieure (Addou, 2009).

Chandrasekaran (2013) estime que les sous-produits sont des produits formés lors de la génération du produit principal et qu'ils sont involontaires, imprévus et accidentels. Ils peuvent être considérés comme des déchets à leur source d'origine, mais peuvent être considérés comme des produits dans d'autres circonstances. Les principaux sous-produits générés en Algérie sont principalement les déchets de palmier dattier, les grignons d'olive, les déchets de tomates et les sous-produits d'agrumes (Mirzaei-Aghsaghali et Maheri-Sis, 2008).

3.1 Les déchets alimentaires des *citrus*

Les citrus sont soit consommés directement, soit transformés en jus, confitures et autres produits de consommation. L'industrie de transformation des agrumes, en particulier dans la production de jus, il y a beaucoup de déchets qui sont malheureusement abandonnés dans l'environnement sans être traités (Kim et al., 2004). Ces déchets créent de graves problèmes pour l'environnement. Ces dernières peuvent ajouter de la valeur en extrayant des produits de valeur, tels que des composés phénoliques, des huiles essentielles, de la pectine, etc (Bicu et al., 2011). Environ la moitié de la masse d'un fruit est constituée d'écorces, lesquelles ont été intensément étudiées en raison de leur teneur en une grande variété de composés bioactifs (khan et al., 2012 ; Jabri Karoui et al.,2013 ; Boukroufa et al.,2015 ; M'hiri et al., 2016 ; Ajikumaran et al., 2018).

Huiles essentielles extraites d'écorces d'agrumes font partie des produits du marché à forte valeur ajoutée. Ils sont extraits des fleurs, des feuilles et des écorces. La flavedo, qui est la partie colorée de l'épiderme de l'écorce d'agrumes, contient des huiles essentielles dans ses cellules et glandes (Bousbia, 2011). Elles sont utilisées dans la préparation de cosmétiques, parfums, savons et autres produits d'entretien ménager. (Sahraoui et al., 2011 ; Schwob et al., 1965). Dans l'industrie alimentaire les arômes des agrumes sont utilisés pour rehausser le goût, la saveur et la couleur des produits alimentaires (Bouguerra, 2012 ; Aprotosoiaie et al., 2010), comme les produits de boulangerie tels que (les gâteaux), les sucreries, les bonbons et les glaces (Grysole, 2005; Gamarra et al., 2006 ; Bouguerra, 2012 ; Aprotosoiaie et al., 2010). Les huiles essentielles sont très utilisées à l'échelle mondiale comme conservateur en raison de la présence de composés aux propriétés antibactériennes et antioxydantes (Hammer et al., 1999 ; Grysole, 2005).

La pectine est un composé polymère naturel largement présent dans les parois cellulaires et les structures moyennes de toutes les plantes supérieures et est considéré comme un polysaccharide complexe. Il est principalement extrait à l'échelle industrielle à partir de marc de pomme, d'écorces d'agrumes, etc (Rezzoug et al., 2007). La pectine possède des

propriétés gélifiantes, épaississantes et stabilisantes, ce qui la rend largement utilisée dans des domaines industriels tels que l'alimentation, la médecine et la chimie (**Wang et al., 2014**). Dans le domaine alimentaire, la pectine est utilisée dans différentes préparations, notamment les préparations à base de fruits dans les recettes de confitures, les yaourts, les boissons et jus concentrés, ainsi que les produits laitiers gélifiés (**Kebaili , 2019**). Dans le domaine médical, elle est utilisée dans la fabrication de suspensions pharmaceutiques et de médicaments de détoxification (**Piriyaprasarth et al., 2011 ; Wang et al., 2014**). Dans l'industrie cosmétique, les polysaccharides sont principalement utilisés comme agents texturants et du fait des diverses propriétés de la pectine, cette substance entre dans la fabrication de vernis, crèmes, gels et lotions (**Kebaili , 2019**).

En industrie chimique, les écorces d'agrumes riches en sucres peuvent être utilisés pour produire du biocarburant et du biogaz, cette production nécessite une hydrolyse acide des déchets des agrumes en utilisant l'acide sulfurique dilué et un traitement chimique pour produire de l'éthanol et du biogaz (**Lohrasbi et al., 2010**).

Les déchets des agrumes trouvent leur application dans la préparation des aliments de bétail. Les sous-produits obtenus après l'extraction du jus des fruits d'agrumes peuvent servir de sources alimentaires riches en énergie dans l'alimentation des ruminants pour soutenir la croissance et la lactation, avec moins d'impact négatif sur la fermentation ruminale que les aliments riches en amidon. Les principaux sous-produits d'agrumes utilisés dans les aliments des ruminants sont la pulpe d'agrumes séchée, la mélasse d'agrumes et la liqueur d'écorces d'agrumes (**Bampidis et al., 2006**).

La pulpe d'agrumes est considérée comme un aliment énergétique, riche en glucides et en composés azotés (**Bambidis et al., 2006**), elle peut remplacer les céréales, notamment les graines de maïs, la luzerne déshydratée, et l'orge pour les vaches laitières (**Bouharoud, 2007**). La valeur nutritionnelle de la pulpe d'agrumes est très importante en raison de sa teneur élevée en glucides facilement fermentescibles et de la présence de multiples

substrats énergétiques pour les micro-organismes du rumen, notamment des glucides solubles et des fractions de fibres facilement digestibles, elle constitue un excellent complément énergétique notamment pour le fourrage grossier et la paille (**Bouharoud, 2007 ; Alsaied et al., 2017**). Toutefois, la pulpe d'agrumes peut également être consommée fraîche ou sous forme d'ensilage, les deux sont généralement bien accueillies par les ruminants. Cependant, la pulpe de citron est plus acceptable que celle des oranges et des pamplemousses (**Bambidis et al., 2006 ; Bouharoud, 2007**).

La pâte d'orange est une excellente base naturelle pour aromatiser et colorer les aliments. C'est une fine pâte colloïdale obtenue par décomposition mécanique et broyage de la peau et de la pulpe. Dans certains cas, l'écorce est cuite à la vapeur à des températures ne dépassant pas 70°C avant d'être broyée pour préserver la vitamine C et la pectine. Mais le produit final doit être rapidement pasteurisé pour inactiver la pectinase. La présence de pectines dans la pâte d'orange garantit une turbidité constante dans les boissons rafraîchissantes et les sirops à l'orange. La confiture d'orange est préparée à partir de différentes parties du fruit : peau entière, albédo et pulpe, en ajoutant une certaine quantité d'eau lors du broyage (**Huet et al., 1962**).

L'incorporation de composés phénoliques issus de sous-produits d'agrumes dans les aliments et les produits médicaux peut contribuer à promouvoir la santé en neutralisant les radicaux libres dans l'organisme, prévenant ainsi le développement de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques (**Assefa, 2016**). Les composés phénoliques présents dans les sous-produits d'agrumes peuvent être utilisés pour inhiber les processus d'oxydation des aliments. Ils sont ajoutés aux aliments tels que les huiles, le pain, les biscuits et les produits laitiers pour prolonger leur durée de conservation en empêchant la peroxydation lipidique et en prévenant les dommages oxydatifs (**Assefa, 2016**).

Certains composés phénoliques issus de sous-produits d'agrumes, principalement la naringine, sont utilisés comme arômes naturels pour aromatiser les boissons, les confiseries

et les produits de boulangerie en raison de leur goût amer typique (**Giannuzzo et al., 2003**). Certaines flavanones, comme l'hespéridine et lanéohespéridine, peuvent être facilement converties en édulcorants naturels potentiels (**M'hiri et al., 2014**).

Matériel et Méthode

La partie expérimentale de notre étude a été effectuée au sein du laboratoire pédagogique de biochimie du département biologie, Faculté SNV – STU, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

Le protocole expérimental de ce présent travail est constitué d'une partie phytochimique et d'une partie biologique. Il a été réalisé de la manière suivante :

- Préparation des extraits eau-éthanol des écorces de *Citrus limon* et *Citrus sinensis*.
- Analyse phytochimique qualitative et dosages quantitatifs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits préparés.
- Évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante des extraits en utilisant le test : DPPH et FRAP.
- Évaluation *in vitro* de l'activité antidiabétique des extraits par mesure de leur effet sur l'activité de l' α -amylase et leurs capacité d'adsorption au glucose.

1 Étude phytochimique

1.1 Le matériel végétal

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé les écorces des fruits d'agrumes *Citrus limon* (citron) et *Citrus sinensis* (orange) achetés du marché de la région de Sabra, Wilaya de Tlemcen, durant le mois de février 2024.

Les écorces récupérés après pressages des fruits, ont été découpée en petits morceaux, dont une quantité du matériel végétal a été utilisée à l'état frais (fraiche) et une autre quantité a été d'abord séchée dans l'étuve à 37 °C pendant 48h (**Figure n°7**).



Figure n° 7: Le matériel végétal utilisé : les écorces de *Citrus limon* frais et séché (a, c) et *Citrus sinensis* frais et séché (b, d).

1.2 Préparation de l'extrait brut eau-éthanol des écorces fraîches du citron et de l'orange

100 g de l'écorce du fruit frais du citron ou de l'orange a été mise en contact avec 800 mL du mélange eau-éthanol (20/80 v/v) dans un ballon puis le mélange est soumis à une décoction sous reflux et à chaud (50°C) pendant 1h. Après refroidissement, le décocté

obtenu a été filtré puis séché dans l'étuve ventilé à 37°C pendant 48h pour récupérer un extrait « l'extrait eau-éthanol » des écorces fraîches.

1.3 Préparation de l'extrait brut eau-éthanol des écorces séchées du citron et de l'orange

60 g de l'écorce du fruit séché du citron ou de l'orange a été mise en contact avec 400 mL du mélange eau-éthanol (20/80 v/v) dans un ballon puis le mélange est soumis à une décoction sous reflux et à chaud (50°C) pendant 1h. Après refroidissement, le décocté obtenu a été filtré puis séché dans l'étuve ventilé à 37°C pendant 48h pour récupérer un extrait « l'extrait eau-éthanol » des écorces séchées.

La **figure n° 8** ci-dessous résume le protocole d'extraction.

1.4 Préparation du mélange de l'extrait eau-éthanol des écorces fraîches et séchées du citron et de l'orange

Pour cette étude nous avons utilisé un mélange des extraits récupérés. Une quantité (un volume) égale de chaque extrait eau-éthanol des écorces fraîches ou séchées du citron et de l'extrait des écorces fraîches ou séchées de l'orange ont a été mélangés pour récupérer un mélange d'extraits des écorces du citron et de l'orange fraîches, et un mélange d'extraits des écorces du citron et de l'orange séchées.

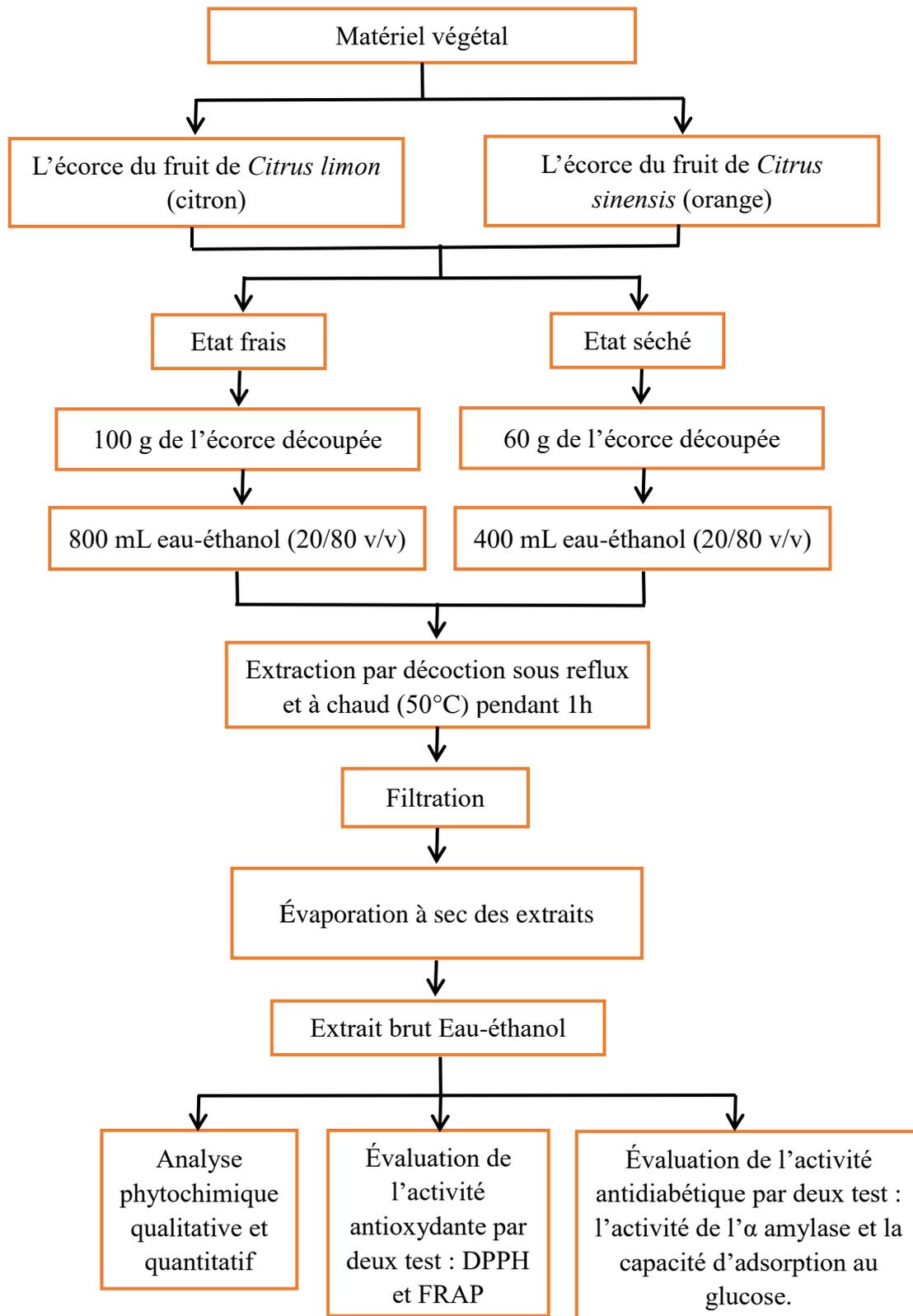


Figure n° 8: Schéma explicatif du protocole expérimental.

1.5 Calcul du rendement des extraits

Le rendement des extraits préparés exprimé en pourcentage (%) a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (m / M) \times 100$$

R : Rendement exprime en %.

m: masse d'extrait récupéré (g).

M : masse du matériel végétal sèche initiale (g).

1.6 Tests phytochimiques des extraits préparés

Les extraits bruts eau-éthanol des écorces du citron, de l'orange, et de leurs mélange, à l'état frais et séché, ont été soumis à des tests phytochimiques qualitatifs, pour détecter la présence ou l'absence de certaines métabolites secondaires notamment tanins, flavonoïdes, quinones libres, terpénoïdes, saponosides, alcaloïdes, et composés réducteurs.

La détection se fait grâce à des réactions de coloration et de précipitation selon le protocole de **Harborne, (1998)** et **Trease et Evans (1989)**.

Les tanins

On prend 1 mL de chaque extrait, et on ajoute 0,25 mL de la solution de FeCl₃ (1%). Après 15 min d'incubation à température ambiante, l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre indique la présence des tanins.

Les flavonoïdes

On prend 1 mL de chaque extrait, et on ajoute 1 mL d'acide chlorhydrique HCl (1%) et quelques copeaux de tournures de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune est indiquée la présence des flavonoïdes.

Les quinones libres

À 1 mL de chaque extrait, on ajoute 0,1 mL d'hydroxyde de sodium NaOH (1%). La présence des quinones libres est indiquée par un virage de couleur jaune, rouge ou violet.

Les terpénoïdes

1 mL de l'extrait est ajouté à 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge se forme à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

Les saponines

Dans un tube à essai, 10 mL de chaque extrait est agité fortement pendant 15 secondes. Après 15 min la présence des saponines est indiquée par la formation d'une mousse persistante d'une hauteur supérieure à 1 cm.

Les alcaloïdes

Introduire 0,5 mL d'extrait dans deux tubes à essai, puis acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%). On ajoute dans un tube 0,5 mL de réactif de Mayer et dans l'autre tube 0,5 mL de réactif de Wagner. La présence des alcaloïdes est indiquée par la formation d'un précipité blanc ou brun, respectivement.

Les composés réducteurs

On ajoute 1 mL de liqueur de Fehling (0,5 mL réactif A et 0,5 mL réactif B) à 1 mL de chaque extrait et laisse l'ensemble incuber pendant 08 min dans un bain-marie bouillant. La formation d'un précipité de couleur rouge brique indique la présence des composés de réduction.

2 Dosage des polyphénols totaux

Principe

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits étudiés, a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un réactif de couleur jaune composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Cette méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques en un nouveau complexe molybdène – tungstène de couleur bleue par ce réactif et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 700 nm (Vermerris et Nicholson, 2006).

Mode opératoire (Benariba et al., 2013 ; Gheffour et al., 2015).

Le dosage des polyphénols totaux est résumé dans le **tableau n°03**.

Tableau n° 3: Protocole du dosage de polyphénols dans les extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.

Concentration acide gallique (µg/mL)	50	100	200	300	400	500	900	1000	Extrait	Blanc
Acide gallique (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		
Extrait (mL)									0,1	
Eau distillée (mL)										0,1
Na ₂ CO ₃ 2% (mL)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
1ère incubation pendant 5min à température ambiante										
Folin-ciocalteu 0,2N (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
2ème incubation pendant 30min à température ambiante et à l'obscurité										
Mesure de l'absorbance à 680 nm										

Les résultats des polyphénols totaux présents dans nos échantillons sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg E) et sont calculés selon la formule suivante :

$$[\text{Polyphénols}] = a.f/C$$

a : concentration finale des polyphénols déterminée à partir de la courbe étalon.

f: facteur de dilution (*22).

C : concentration de l'extrait (10 mg/mL).

3 Dosage des flavonoïdes

Principe

La détermination du taux des flavonoïdes a été effectuée par la méthode colorimétrique décrite par **Dewanto et al., (2002)**. Cette méthode est reposée sur l'oxydation des

flavonoïdes par le nitrite de sodium (NaNO_2) et le chlorure d'aluminium (AlCl_3), qui forme un complexe rose ayant une absorption à 510 nm.

Mode opératoire (Benariba et al. 2013)

Le dosage de flavonoïdes est résumé dans **le tableau n°04**

Tableau n° 4: Dosage de flavonoïde dans les extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.

Concentration Catéchine ($\mu\text{g/mL}$)	50	100	200	300	400	500	Extrait	Blanc
Catéchine (μL)	250	250	250	250	250	250		
Extrait (μL)							250	
Eau distillée (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1250
NaNO_2 15% (μL)	75	75	75	75	75	75	75	75
1ère incubation pendant 6 min à température ambiante								
AlCl_3 10% (μL)	75	75	75	75	75	75	75	75
2ème incubation pendant 6 min à température ambiante								
NaOH 4% (μL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ajuster la volume total à 2500 μL								
3ème incubation à température ambiante pendant 15 min								
Mesure de l'absorbance à 520 nm								

Le taux des flavonoïdes présents dans les différents extraits exprimés en microgrammes équivalent de catéchine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EC/ mg E}$) est calculé selon la formule suivante :

$$[\text{Flavonoïdes}] = a.f/C$$

a : concentration de flavonoïdes déterminée à partir de la courbe étalon

f : facteur de dilution (*10).

C : concentration de l'extrait (10 mg/mL).

4 Dosage des tanins condensés

Principe

La détermination du taux des tanins condensés a été réalisé par la méthode à la vanilline en milieu acide. Le principe de cette méthode repose sur la capacité de la vanilline à réagir avec les tanins condensés pour donner un complexe de couleur rose dans un milieu acide, avec une absorption maximale à 500 nm. Les tanins condensés présents dans les extraits sont proportionnels à la couleur (Sun et al., 1998).

Mode opératoire (Kanonn et al. 2014)

Tableau n° 5: Dosage de tanins dans les extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.

Concentration catéchine (µg/mL)	20	100	300	500	600	800	900	1000	Extrait	Blanc
Catéchine (µL)	50	50	50	50	50	50	50	50		
Extrait (µL)									50	
Eau distillée (µL)										50
Vanilline 4% (µL)	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Acide sulfurique (µL)	750	750	750	750	750	750	750	750	750	750
Incubation à température ambiante pendant 15 min										
Mesure de l'absorbance à 490 nm										

Les résultats des tanins condensés présents dans les différents extraits sont exprimés en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EC/ mg E}$) selon la formule suivante :

$$[\text{Tanins}] = a.f/C$$

a : concentration finale des tanin déterminée à partir de la courbe d'étalon.

f : facteur de dilution (*46).

C : concentration de l'extrait (10 mg/mL)

5 Évaluation de l' activité antioxydante des extraits des écorces du citron et de l' orange

5.1 Évaluation de l'effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur le piégeage du radical libre DPPH

Principe

Le DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable ayant une couleur violette utilisé pour évaluer la capacité antioxydante des extraits. En présence d'antioxydants le radical DPPH est réduit en un complexe jaune, dont la capacité de réduction des radicaux libres du milieu réactionnel est inversement proportionnelle à l'intensité de la couleur et à l'absorbance. La mesure des absorbances à 517 nm sert à calculer le pourcentage de réduction du DPPH (Gülçin et al., 2004 ; Miliuskas et al., 2004 ; Popovici et al., 2009).

Mode opératoire (Benariba et al., 2013)

Le mode opératoire pour l'évaluation de l'effet de chaque extrait sur la réduction du DPPH est résumé dans le **tableau n°06**.

Tableau n° 6: Mode opératoire pour mesurer l'activité antiradicalaire du DPPH des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.

Concentration acide ascorbique (µg/mL)	5	10	25	50	100	200	400	Extrait	Contrôle Négatif
Acide ascorbique (µL)	25	25	25	25	25	25	25		
Les extraits (µL)								25	
Méthanol (µL)									25
DPPH (µL)	975	975	975	975	975	975	975	975	975
Incubation pendant 30 min à température ambiante et l'obscurité									
Mesure de l'absorbance à 520 nm									

Le pourcentage de réduction ou d'inhibition du DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\text{DPPH}\% = [(\text{DO contr} - \text{DO éch}) / \text{DOcontr}] \times 100$$

DPPH% : Pourcentage de réduction du DPPH.

DO contr : Densité optique du tube contrôle négatif.

DO éch : Densité optique de l'extrait.

La valeur **IC₅₀** qui correspond à la concentration du substrat responsable de la réduction de 50% du DPPH, a été déterminée par l'équation de la courbe de régression linéaire (DPPH (%) = f [extrait µg/mL]). Plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'extrait présente une activité antioxydante élevée.

5.2 Évaluation de l'effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur la réduction du fer (méthode de FRAP)

Principe

L'existence de composés réducteurs dans les extraits réduit le fer ferrique (Fe³⁺) du complexe ferricyanure (K₃Fe) en fer ferreux (Fe²⁺). La réduction se manifeste par le

changement de couleur du ferricyanure de potassium du jaune au bleu-vert, son intensité variant en fonction du pouvoir réducteur (Li et al., 2009).

Mode opératoire (Karagozler et al., 2008)

Le protocole de l'évaluation de l'activité antioxydante par réduction du fer est résumé dans le **tableau n°07**.

Tableau n° 7: Mode opératoire de l'activité antiradicalaire des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché.

Concentration BHA (µg/mL)	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200	Extrait	Blanc
BHA (µL)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50		
Extrait (µL)											50	
Eau distillée (µL)												50
PBS (0.2N; pH= 6.6) (µL)	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
K3Fe (CN) ₆ 1 % (µL)	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
Incubation dans l'étuve pendant 20 min à 50°C												
TCA 10% (µL)	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
Incubation pendant 10 min à température ambiante												
Surnageant (µL)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
Eau distillée (µL)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
FeCl ₃ 0.1 % (µL)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Musure de l'absorbance à 680 nm												

On calcule la concentration efficace correspondant à 0,5 d'absorbance (EC₅₀) à partir de la courbe d'absorbance en fonction des concentrations de l'échantillon.

6 Évaluation de l' activité antidiabétique des extraits des écorces du citron et de l' orange

6.1 Évaluation de l'effet des extraits sur l'activité de l' α amylase

Principe

Lorsque la solution d'enzyme α -amylase est incubée avec la solution d'amidon, en milieu alcalin et à chaud, cela entraîne l'hydrolyse du substrat et la libération des sucres réducteurs, qui sont mesurés selon la méthode de **Benfeld, (1955)**. L'oxydation des sucres réducteurs entraîne la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNSA), qui est de couleur jaune-orange, en acide 3-amino5 nitrosalicylique de couleur rouge orange. L'absorbance de ce chromogène est mesurée à 540 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel (**Laoufi et al., 2017**).

Préparation des réactifs (Benfeld., 1955)

Solution de l' α -amylase

L'enzyme utilisée est l' α -amylase (E.C.3.2.1.1) provenant du pancréas du porc (PPA), présentée sous forme lyophilisée. Elle a un poids moléculaire de 13000 Da et une activité spécifique de 13 UI/mg, elle est conservée à une température de +4°C. Pour préparer la solution enzymatique, 3 mg de PPA sont solubilisés dans 10 mL d'une solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9). La solution obtenue présente une activité α -amylasique de 1,3 UI/mL, et l'activité optimale de cette enzyme se situe à un pH de 6,9 et une température de 37°C.

Solution du substrat

Le substrat utilisé est l'amidon soluble. La solution d'amidon est préparée à une concentration de 0,5 % dans une solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9).

Réactif 3,5-Di Nitro Salicylique Acide (DNSA)

Le réactif 3,5-Dinitrosalicylique Acide (DNSA) est préparé à l'aide de deux solutions, solution A : 1,6 g de NaOH est solubilisé dans 20 mL d'eau distillée à température ambiante, ensuite préchauffée jusqu'à 60 °C, 30 g de tartrate double sodium-potassium sont ajoutés sous agitation. Solution B : 1 g de DNSA est solubilisé dans 40 mL d'eau distillée préchauffée à 60°C. La solution A et la solution B sont mélangées sous agitation pour

obtenir un réactif de couleur orange, et le volume obtenu est ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière à 4°C.

Solution tampon phosphate (0,02 M ; pH=6,9)

La solution tampon est préparée en mélangeant deux solutions, la solution A est monobasique (NaH_2PO_4) ($M=137,99$ g/mole) et la solution B dibasique (Na_2HPO_4) ($M=142$ g/mole). $m(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = 1,103$ g pour 400 mL d'eau distillée, $m(\text{NaH}_2\text{PO}_4) = 1,136$ g pour 400 mL d'eau distillée. Ensuite, les deux solutions sont mélangées pour obtenir une solution tampon phosphate de concentration 0,02 M et pH=6,9.

$$m(\text{NaH}_2\text{PO}_4) = C.V.M = 0,02 \times 0,4 \times 137,99 = 1,103\text{g.}$$

$$m(\text{Na}_2\text{HPO}_4) = C.V.M = 0,02 \times 0,4 \times 142 = 1,136\text{g.}$$

Solution de l'acarbose

L'acarbose est un pseudo-tétra-saccharide d'origine microbienne. Il est utilisé comme contrôle positif dans cette étude pour comparer son activité vis-à-vis de l' α -amylase. Un comprimé de 50 mg est solubilisé dans 25 mL de tampon phosphate sous agitation pour obtenir une concentration de 2mg/mL. Ensuite, on réalise différentes dilutions à partir de cette solution mère (15; 31; 62; 125; 250; 500; et 1000 $\mu\text{g/mL}$).

Solution des extraits de citron, de l'orange et des mélanges

Les concentrations des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélanges à l'état fraîches et séchées (180 ; 240 ; 400 ; 800 ; 1000 et 2000 $\mu\text{g/mL}$) sont préparées dans la solution tampon phosphate (0,02 M ; pH=6,9) pour évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l' α -amylase.

Mode opératoire

L'effet de chaque concentration des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélanges à l'état frais et séchées sur l'activité de l' α -amylase ont été testés selon la méthode de **Benfeld, (1955)**. Le mode opératoire de ce test est résumé dans le **tableau n°08**.

Tableau n° 8: Evaluation de l'effet des extraits des écorces du citron, de l'orange et des mélange à l'état frais et séché sur l'activité inhibitrice de l' α amylase.

Tube extrait	Tube blanc extrait	Tube contrôle	Tube blanc contrôle
100 μ L Extrait 100 μ L Enzyme	100 μ L Extrait 100 μ L PBS	100 μ L PBS 100 μ L Enzyme	100 μ L PBS 100 μ L PBS
Incubation pendant 10 min à 37 °C dans l'étuve			
100 μ l amidon	100 μ l amidon	100 μ l amidon	100 μ l amidon
Incubation pendant 15 min à 37 ° C dans l'étuve			
300 μ L DNSA	300 μ L DNSA	300 μ L DNSA	300 μ L DNSA
Dénaturation de l'enzyme au bain marie pendant 8 min à 100°C suivi par un choc thermique au bain de glace à 3 min			
500 μ L eau distillée	500 μ L eau distillée	500 μ L eau distillée	500 μ L eau distillée
Mesure l'absorbance à 550 nm			

Le pourcentage d'inhibition de l' α -amylase est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{DO contr} - \text{DO éch}) / \text{DOcontr}] \times 100$$

(%) : Pourcentage d'activité d' α -amylase.

DO contr: l'absorbance de tube contrôle.

DO éch : l'absorbance de l'extrait.

Les valeurs de **IC₅₀** qui représentent la concentration de l'échantillon inhibant 50% de l'activité enzymatique. Elles sont calculées à partir des équations des régressions linaires des courbes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits.

6.2 Évaluation de la capacité des extraits sur d'adsorption au glucose

Principe

Le test de la capacité d'adsorption au glucose a pour objectif de tester la capacité des extraits à former des complexes avec le glucose libre, principe de la glycosylation. Il peut nous renseigner sur le mécanisme hypoglycémiant des extraits de plantes (**Kebieche, M. 2009, et Roussel et al., 2020**). Après incubation du glucose avec les extraits, le glucose libre (non adsorbé) dans le milieu est mesuré par un dosage enzymatique à la glucose-oxydase-peroxydase GOD-POD, qui est basé sur l'oxydation du glucose en acide gluconique sous l'action de l'enzyme GOD et la formation du H₂O₂. Ce dernier, sous l'effet de peroxydase (POD), réagit avec un chromogène, et il libère dans le milieu H₂O et la quinone qui développe une couleur rose qui absorbe à 510nm.

Mode opératoire

Dans ce test, la concentration de l'extrait est fixée à 20 mg/mL et la solution de glucose est variée à 5 ; 10 ; 50 et 100 mMoL. Le glucose libre a été déterminé par la méthode enzymatique au glucose oxydase et à la peroxydase en utilisant le kit SPINREACT. L'acarbose et l'acide gallique sont utilisées comme contrôle positif à une concentration de 2mg/mL et 1mg/mL, respectivement. Les étapes de ce test sont résumées dans le **tableau n°09**.

Tableau n° 9: Mode opératoire du test de la capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces de citron, de l'orange et des mélanges à l'état frais et séché.

Glucose (mMoL)	5	10	50	100	Étalon	Blanc
Glucose (µL)	100	100	100	100		
Extrait (µL)	100	100	100	100		
Agitation des tubes						
Incubation pendant 1h et 3h à 37°C dans l'étuve						
Dosage enzymatique du glucose (GOD-POD)						
Surnageant (µL)	10	10	10	10		
Étalon (µL)					10	
Réactif (GOD-POD)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Incubation pendant 15 min à température ambiante						
Mesure l'absorbance à 510 min						

La formule suivante a été utilisée pour déterminer le taux de glucose libre dans chaque tube exprimé en mMol :

$$\text{Le glucose libre (mM/g extrait)} = \frac{(C_i - C_f)}{\text{Masse de l'extrait (g)}} \times \text{Volume du milieu (L)}$$

C_i: Concentration initiale du glucose (mM).

C_f: Concentration finale du glucose (mM).

C_f (mM) = [(DO_{échantillon}/DO_{étalon}) x 100] x 0,0555 mM (SPINREACT).

DO_{échantillon} : Densité optique du tube échantillon.

DO_{étalon} : Densité optique du tube étalon.

7 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant une analyse de variance à un facteur (ANOVA) suivie du test de Tukey par logiciel SPSS 26. Une valeur de $p \leq 0,001$ a été considérée comme très significative.

Résultats et Interprétation

1 Rendements des extraits des écorces du citron et de l'orange à l'état frais et séché

Les caractéristiques et les rendements de chaque extrait récupéré sont représentés dans le **tableau n°10**. Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des extraits eau-éthanol des écorces du citron et de l'orange à l'état frais sont récupérés sous forme de pâte de couleur marron, soluble dans l'eau distillée. En ce qui concerne les rendements, l'extrait de citron a un rendement de 4,63%, tandis que l'extrait d'orange a un rendement de 5,1%.

Les extraits eau-éthanol des écorces de citron et d'orange à l'état séché, sont récupérés sous forme de pâte solide de couleur marron soluble dans l'eau distillée. En ce qui concerne les rendements, l'extrait de citron a un rendement de 11,37%, alors que l'extrait d'orange est le plus élevé avec un rendement de 15,72%.

Tableau n° 10: Caractéristiques et rendement des extraits des écorces du citron et de l'orange.

	Aspect et couleur	Rendement (%)	Solubilité
Extrait eau-éthanol du citron frais	Pâte -Marron	4,63 ± 0,036	Eau distillée
Extrait eau-éthanol de l'orange frais	Pâte-Marron	5,1 ± 0,045	
Extrait eau-éthanol du citron séché	Pâte solide Marron	11,37 ± 0,058	
Extrait eau-éthanol de l'orange séché	Pâte solide Marron	15,72 ± 0,06	

2 Screening phytochimiques des extraits

Les résultats des tests phytochimiques des extraits préparés sont représentés dans le **tableau n°11**. Les analyses phytochimiques réalisés sur les extraits eau-éthanol des écorces du citron et de l'orange à l'état frais et séché ont révélé la présence ou l'absence de

certaines métabolites secondaires. Les résultats que nous avons obtenus ont permis la détection de la présence de flavonoïdes, de quinones libres, de tanins, de saponines et de composés réducteurs dans tous les extraits préparés avec l'absence de terpénoïdes et des alcaloïdes.

Tableau n° 11: Screening phytochimiques des extraits des écorces du citron et de l'orange fraîches et séchées.

		Tanins	Flavonoïdes	Quinones libres	Terpénoïdes	Saponines	Alcaloïdes		Composés réducteurs
							Mayer	Wagner	
Frais	Citron	+	+	+	-	+	-	-	+
	Orange	+	+	+	-	+	-	-	+
	Mélange citron-orange	+	+	+	-	+	-	-	+
Séché	Citron	+	+	+	-	+	-	-	+
	Orange	+	+	+	-	+	-	-	+
	Mélange citron-orange	+	+	+	-	+	-	-	+

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif.

3 Taux des composés phénoliques

Le taux de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins condensés dans les extraits des écorces du citron et de l'orange fraîches et séchés, et dans leurs mélanges sont représentés dans le **tableau n°12**. Les résultats obtenus sont exprimés respectivement en microgrammes

équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg E}$), et en microgrammes équivalent de la catéchine par milligrammes d'extrait ($\mu\text{g EC/mg E}$).

La **figure n°09** et la **figure n°10** représente le taux de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits préparés qui a été calculé à partir des équations de la régression linéaire des courbes étalonnage de l'acide gallique et la catéchine, respectivement.

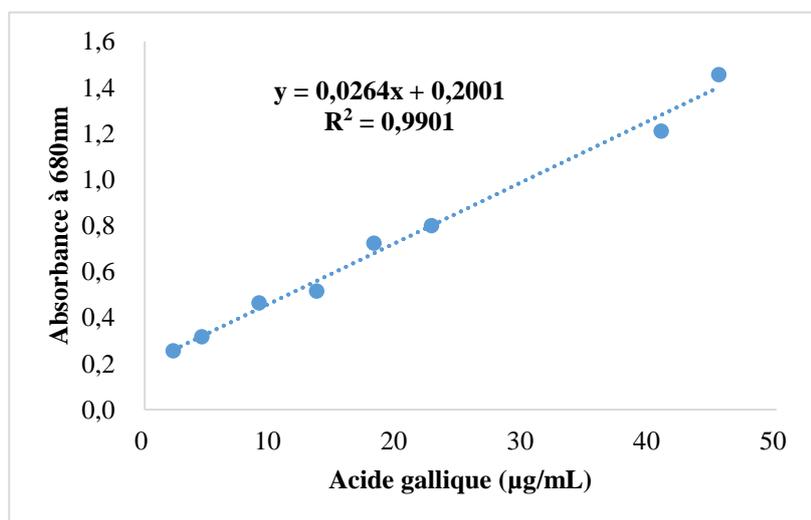


Figure n° 9: Courbe étalon de l'acide gallique ($\mu\text{g/mL}$) pour le dosage des polyphénols.

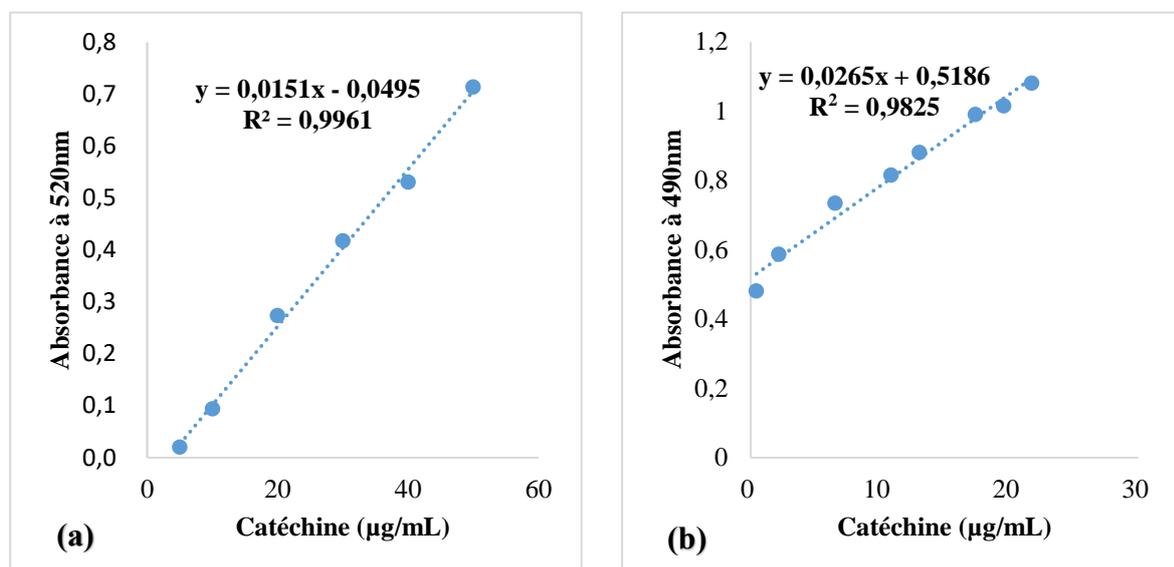


Figure n° 10: Courbe étalon de la catéchine ($\mu\text{g/mL}$) pour le dosage des flavonoïdes (a) et des tanins (b).

Les extraits des écorces à l'état frais, ont révélé un taux élevé en polyphénols dans l'extrait du citron ($67,51 \pm 0,025 \mu\text{g EAG/mg E}$), de l'orange ($65,22 \pm 0,013 \mu\text{g EAG/mgE}$) et du mélange citron-orange ($61,68 \pm 0,044 \mu\text{g EAG/mg E}$), respectivement. En revanche, la

teneur en flavonoïdes est moyennement faible avec un taux maximal dans l'extrait du citron de $26,46 \pm 0,019 \mu\text{g EC/mg E}$, $18,51 \pm 0,017 \mu\text{g EC/mg E}$ pour l'orange, et citron-orange $22,48 \pm 0,026 \mu\text{g EAG/mg E}$ pour le mélange citron-orange. En plus, ces extraits présentent un taux moyen en tanins de $40,17 \pm 0,055 \mu\text{g EC/mg E}$, $56,37 \pm 0,032 \mu\text{g EC/mg E}$ et $10,66 \pm 0,015 \mu\text{g EC/mg E}$.

Les extraits des écorces à l'état séché, ont montré des taux comparables à ceux des extraits à l'état frais $62,51 \pm 0,011 \mu\text{g EAG/mg E}$, $55,84 \pm 0,06 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $54,18 \pm 0,032 \mu\text{g EAG/mg E}$ de polyphénols ont été déterminé dans les extraits de citron, d'orange et mélange citron-orange, respectivement. Le taux de flavonoïdes est $21,16 \pm 0,034 \mu\text{g EC/mg E}$, $9,9 \pm 0,026 \mu\text{g EC/mg E}$ et $13,87 \pm 0,035 \mu\text{g EC/mg E}$, tandis que le taux de tanins déterminé est de $73,15 \pm 0,072 \mu\text{g EC/mg E}$, $87,04 \pm 0,017 \mu\text{g EC/mg E}$ et $70,26 \pm 0,096 \mu\text{g EC/mg E}$.

A la lumière des résultats, on remarque que les extraits à l'état frais renferment des taux élevés en polyphénols et en flavonoïdes, tandis que le taux des tanins augmente significativement ($p \leq 0,001$) dans les extraits à l'état séchés par rapport à l'état frais. Une constatation qui a été enregistré, c'est que les teneurs en polyphénols et flavonoïdes sont élevées dans les extraits du citron frais et séchés par rapport aux extraits de l'orange. Alors que le taux de tanins augmente significativement dans les extraits de l'orange frais et séchés par rapport aux extraits du citron. Le mélange des extraits frais et séché citron-orange a révélé une faible diminution du taux de polyphénol, contrairement au taux de flavonoïdes qui a diminué significativement, et qui reste inférieur à celui du citron mais supérieur à celui de l'orange. Le taux des tanins dans le mélange a significativement diminué par rapport aux taux des oranges et le taux du citron.

Tableau n° 12: Taux de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits des écorces de citron et d'orange.

		Polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg E}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EC/mg E}$)	Tannins ($\mu\text{g EC/mg E}$)	Valeur de p globale
Frais	Citron	$67,51 \pm 0,025^f$	$26,46 \pm 0,019^f$	$40,17 \pm 0,055^b$	$p \leq 0,001$
	Orange	$65,22 \pm 0,013^e$	$18,51 \pm 0,017^c$	$56,37 \pm 0,032^c$	
	Mélange citron-orange	$61,68 \pm 0,044^c$	$22,48 \pm 0,026^e$	$10,66 \pm 0,015^a$	
Séché	Citron	$62,51 \pm 0,011^d$	$21,16 \pm 0,034^d$	$73,15 \pm 0,072^e$	
	Orange	$55,84 \pm 0,06^b$	$9,9 \pm 0,026^a$	$87,04 \pm 0,017^f$	
	Mélange citron-orange	$54,18 \pm 0,032^a$	$13,87 \pm 0,035^b$	$70,26 \pm 0,096^d$	
<p>$p < 0,001$ est très significatif, Différentes lettres signifient une différence significative à $p = 0,05$ selon test de Tukey</p>					

4 Effet antioxydante des extraits des écorces du citron et de l' orange

Deux tests ont été effectués pour évaluer l'activité antioxydante : le test de piégeage du radical libre DPPH et le test de réduction du fer (FRAP).

4.1 Effet antiradicalaire sur le DPPH

Les résultats de l'effet antiradicalaire sur le DPPH de l'acide ascorbique et des extraits des écorces du citron et de l'orange sont regroupés dans les **tableaux n°13, n°14**.

Suivant les résultats obtenus, nous avons déterminé les valeurs de IC_{50} à partir de l'équation de la régression linéaire et logarithmique (**figure n°11, et n°12**) pour les six

extraits et l'acide ascorbique.

Le **tableau n°13** montre une augmentation du pourcentage de réduction du DPPH proportionnelle à l'augmentation de la concentration en acide ascorbique. À la concentration 2,5µg/mL, il réduit 97,10% du DPPH avec une IC₅₀ de 0,39µg/mL.

Tableau n° 13: Effet antiradicalaire de l'acide ascorbique sur le DPPH exprimé en pourcentage.

	Concentration de l'acide ascorbique (µg/mL)					IC ₅₀ (µg/mL)
	0,125	0,25	0,625	1,25	2,5	
Réduction de DPPH (%)	16,43 ± 0,003	34,78 ± 0,045	70,05 ± 0,034	85,02 ± 0,038	97,10 ± 0,006	0,39 ± 0,039

L'effet antiradicalaire des extraits des écorces du citron, de l'orange à l'état frais et séché et de leurs mélanges est représenté dans le **tableau n°14** et la **figure n°11 (b et c)**. Selon ces résultats tous les extraits frais et séchés ont montré une réduction du DPPH, et qui est proportionnelle à concentration des extraits, sachant que les extraits à l'état frais montrent une meilleure activité par rapport aux extraits. Ces extraits à 250µg/mL assurent une réduction du DPPH qui varie entre 71,19 et 97,1%, tandis que les extraits séchés à la même concentration arrivent à une réduction qui varie entre 69,44 et 89,86%. Le mélange entre les extraits frais et les extraits séché a significativement augmenter leur pouvoir antiradicalaire.

En termes de valeur de IC₅₀ (**Figure n°12**), globalement les valeurs déterminées sont intéressantes, elles varient entre 28,05 et 151,62 µg/mL. Sachant que les meilleures valeurs sont enregistrées pour le mélange citron-orange frais 28,05µg/mL, l'extrait du citron frais 99,95µg/mL, ensuite le mélange citron-orange séché 109,59µg/mL. Les valeurs de l'extrait du citron séché, de l'extrait de l'orange frais, et séchés sont comme suit, 140,05, 136,85, et 151,62 µg/mL. Ces valeurs sont significativement supérieures à celle du contrôle positif la vitamine C (0,39µg/mL).

Tableau n° 14: Effet antiradicalaire des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur le DPPH exprimé en pourcentage (%).

		Concentration des extraits (µg/mL)									IC ₅₀ (µg/mL)	Valeur de <i>p</i> globale
		5	6	10	25	50	75	125	200	250		
Frais	Citron	18,5 2 ± 0,02 1	20,5 8 ± 0,02 6	24,2 8 ± 0,00 3	29,2 2 ± 0,01 8	34,5 7 ± 0,04 0	48,1 5 ± 0,02 1	61,7 3 ± 0,00 6	81,4 8 ± 0,01 5	87,2 4 ± 0,00 3	99,95 ± 0,013	<i>p</i> ≤ 0,001
	Orange	17,2 8 ± 0,00 6	19,7 5 ± 0,01 2	23,4 6 ± 0,01 5	28,4 ± 0,02 9	33,3 3 ± 0,02 3	38,2 7 ± 0,01 2	48,1 5 ± 0,01 7	62,5 5 ± 0,03 4	71,1 9 ± 0,02 4	140,05 ± 0,026	
	Mélange citron- orange	17,3 9 ± 0,01 2	21,7 4 ± 0,00 6	27,4 5 ± 0,00 6	43,4 8 ± 0,01 5	58,9 4 ± 0,02 7	64,2 5 ± 0,02 0,02	78,2 6 ± 0,01 2	95,1 7 ± 0,00 3	97,1 ± 0,00 6	28,05 ± 0,021	
Séché	Citron	13,8 9 ± 0,01	16,6 7 ± 0,00 6	19,4 4 ± 0,02 5	26,3 9 ± 0,01 2	33,3 3 ± 0,01 2	43,9 8 ± 0,01 5	48,1 5 ± 0,01 2	59,7 2 ± 0,00 6	76,3 9 ± 0,01 5	136,85 ± 0,009	
	Orange	11,1 1 ± 0,03 1	15,2 8 ± 0,01 2	18,9 8 ± 0,01 5	25 ± 0,01 2	32,4 1 ± 0,01 2	37,5 ± 0,02 1	47 ± 0,01 2	58 ± 0,01	69,4 4 ± 0,04 2	151,62 ± 0,011	
	Mélange citron- orange	10,1 4 ± 0,02	17,3 9 ± 0,04 6	20,2 9 ± 0,04 5	23,1 9 ± 0,03 5	34,7 8 ± 0,01 5	47,8 3 ± 0,01 0,01	57,9 7 ± 0,01 2	75,3 6 ± 0,00 6	89,8 6 ± 0,00 6	109,59 ± 0,01	

p ≤ 0,001 est très significatif

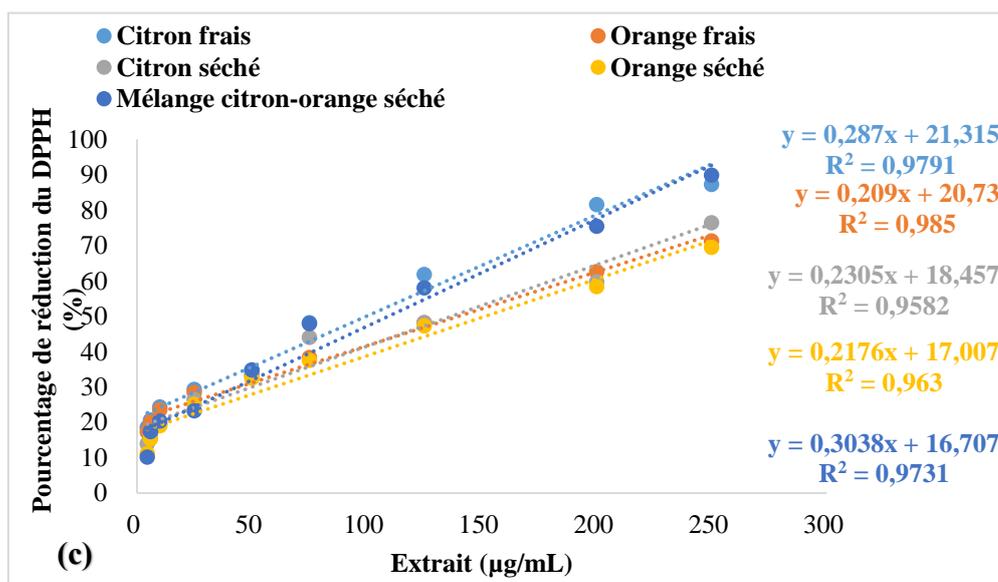
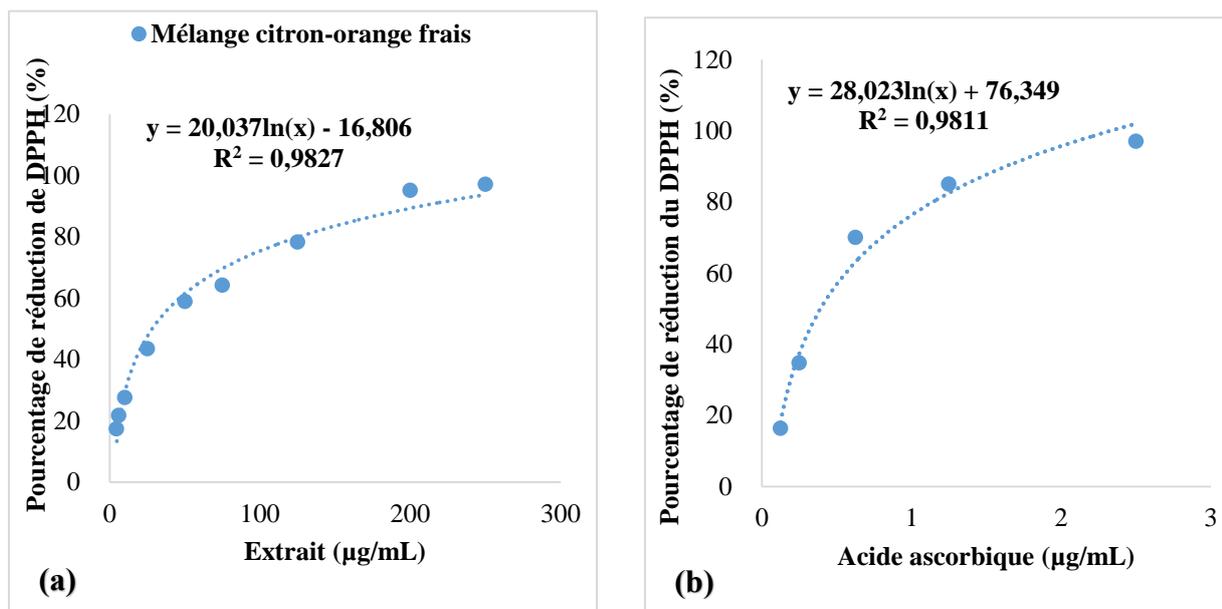


Figure n° 11: Effet antiradicalaire des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur le DPPH

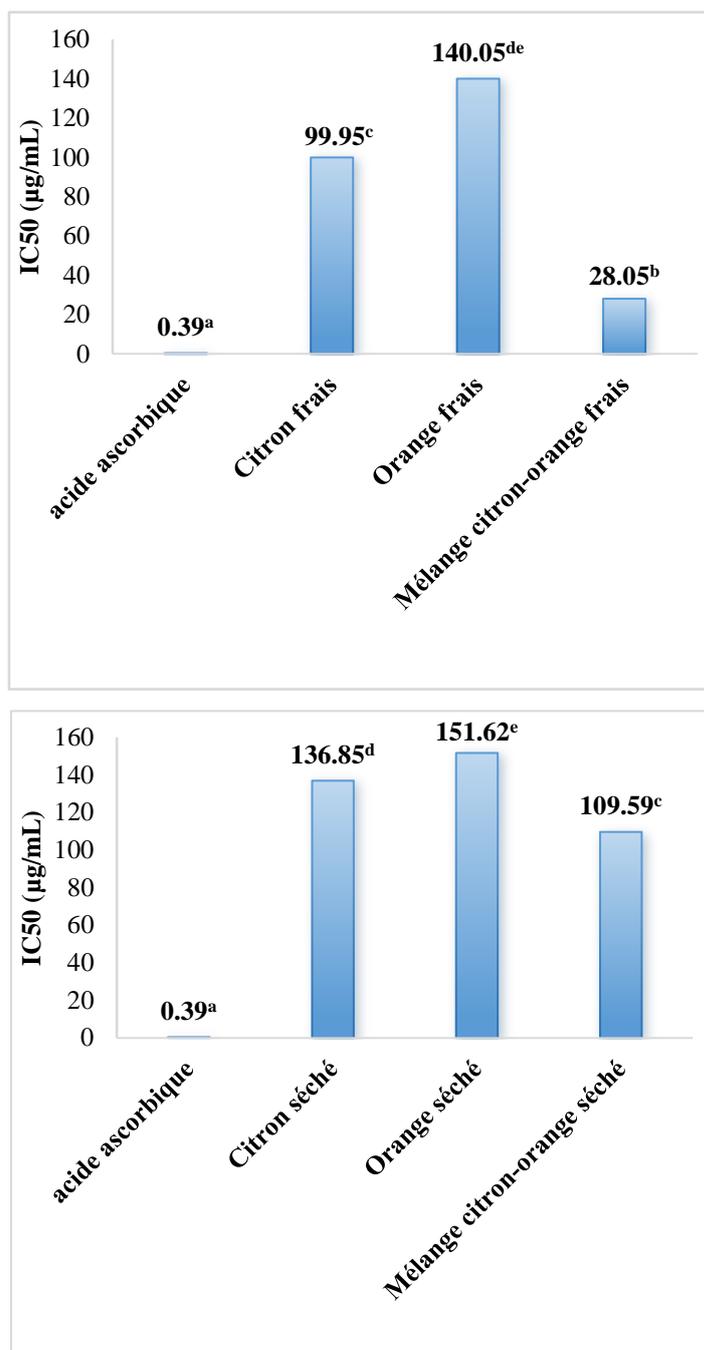


Figure n° 12: Valeurs IC50 de l'effet antiradicalaire des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur le DPPH.

Valeur de P globale par rapport au acide ascorbique est $p \leq 0,001$: très significative, Différentes lettres signifient une différence significative à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

4.2 Le pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP)

Le pouvoir réducteur des extraits des écorces du citron et de l'orange sur la réduction du fer a été déterminé en utilisant le BHA et l'acide ascorbique comme contrôles positifs. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau n°15** et la **figure n°13**. La concentration efficace moyenne (EC_{50}) qui correspond à une absorbance de 0,5 déterminé est de 24,02 μ g/mL pour le BHA, et 17,24 μ g/mL pour l'acide ascorbique.

Tableau n° 15: Absorbances de l'effet du BHA et de l'acide ascorbique sur la réduction du fer.

	Concentration (μ g/mL)							EC_{50} (μ g/mL)
	1	2	4	8	17	33	67	
BHA (680nm)	0,05 \pm 0,003	0,07 \pm 0,003	0,11 \pm 0,003	0,22 \pm 0,008	0,41 \pm 0,007	0,68 \pm 0,013	1,28 \pm 0,104	24,02 \pm 0,01
A. Ascorbique (680nm)	0,01 \pm 0,003	0,08 \pm 0,012	0,1 \pm 0,012	0,29 \pm 0,007	0,47 \pm 0,021	0,89 \pm 0,052	1,97 \pm 0,033	17,24 \pm 0,036

L'effet des extraits des écorces du citron, de l'orange, et de leurs mélanges sur le pouvoir réducteur du fer est représenté dans le **tableau n°16** et la **figure n°13 (c)**. L'ensemble des extraits ont montré un pouvoir réducteur du fer très remarquable, dont les valeurs de EC_{50} déterminées (**Figure n°14**) varient entre 642,29 et 993,6 μ g/mL. Les extraits du citron à l'état frais et séchés montrent un effet meilleur que l'effet des extraits de l'orange. De plus, le mélange des extraits citron-orange améliore cet effet, ce qui nous renseigne sur le pouvoir réducteur dominant du citron dans le mélange. EC_{50} du mélange frais est de 642,29 μ g/mL, et qui passe à 753,17 μ g/mL dans le mélange citron-orange séché. Les extraits du citron frais et séché ont révélé des EC_{50} de 787 et 945 μ g/mL, respectivement. Tandis que, les EC_{50} des extraits de l'orange frais et séchés sont les plus élevée, 993,6 et 980,8 μ g/mL, respectivement.

Pour les extraits des écorces à l'état frais, on note qu'il y'a un fort potentiel de réduction du fer dans l'extrait de mélange citron-orange ($EC_{50} = 642,29\mu$ g/mL), suivi par l'extrait de citron ($EC_{50} = 787\mu$ g/mL) et l'extrait de l'orange ($EC_{50} = 993,6\mu$ g/mL).

Tableau n° 16: Absorbances de l'effet des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur la réduction du fer.

		Concentration des extraits (µg/mL)									EC ₅₀ (µg/mL)	Valeur de <i>p</i> globale
		30	40	66,6 7	167	333	500	833	133 3	1667		
Frais	Citron	0,02 ± 0,00 6	0,04 ± 0,00 3	0,06 ± 0,00 3	0,13 ± 0,01 2	0,21 ± 0,00 6	0,38 ± 0,01 2	0,57 ± 0,01 2	0,73 ± 0,03 4	1,05 ± 0,01 2	787 ± 0,012	<i>p</i> ≤ 0,001
	Orange	0 ± 0	0,01 ± 0,00 6	0,02 ± 0,01 2	0,06 ± 0,01 0	0,17 ± 0,00 6	0,35 ± 0,01 5	0,45 ± 0,03 2	0,66 ± 0,02 1	0,87 ± 0,06 1	993,6 ± 0,026	
	Mélange citron-orange	0,04 ± 0,00 3	0,05 ± 0,00 9	0,07 ± 0,01 2	0,16 ± 0,00 6	0,32 ± 0,02 3	0,48 ± 0,02	0,64 ± 0,01 2	0,82 ± 0,06 1	1,25 ± 0,02 3	642,2 9 ± 0,016	
Séché	Citron	0,02 ± 0,01 0	0,03 ± 0,00 9	0,05 ± 0,01 2	0,11 ± 0,01 2	0,19 ± 0,02 6	0,38 ± 0,02 1	0,48 ± 0,01 5	0,69 ± 0,01 7	0,90 ± 0,01 7	945 ± 0,016	
	Orange	0 ± 0	0 ± 0	0,02 ± 0,00 6	0,04 ± 0,01 2	0,15 ± 0,00 3	0,31 ± 0,01 5	0,43 ± 0,02 1	0,60 ± 0,01 7	0,75 ± 0,01 7	980,8 ± 0,019	
	Mélange citron-orange	0,03 ± 0,00 6	0,05 ± 0,01 2	0,06 ± 0,01 2	0,14 ± 0,02 1	0,25 ± 0,02 3	0,40 ± 0,01 7	0,56 ± 0,01 7	0,75 ± 0,00 3	0,96 ± 0,00 9	753,1 7 ± 0,017	

p ≤ 0,001 est très significatif

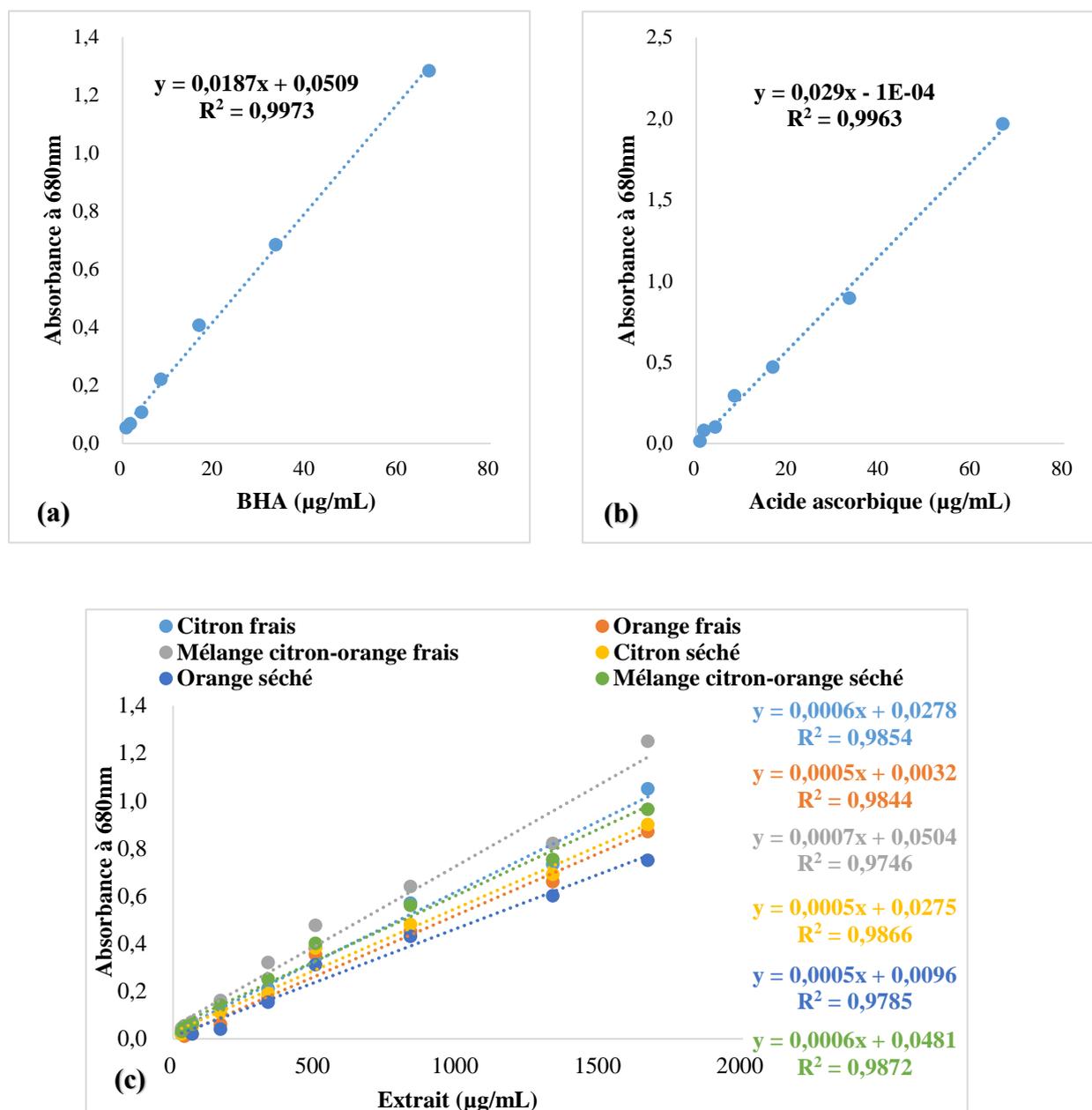


Figure n° 13: Pouvoir réducteur des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur la réduction du fer.

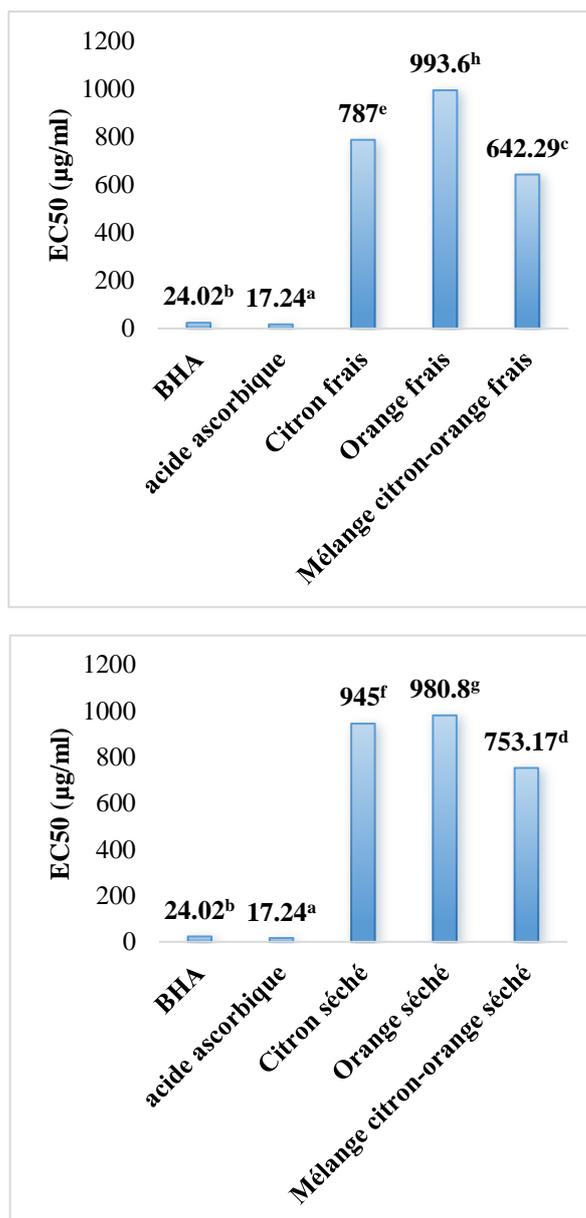


Figure n° 14: Valeurs de EC50 du pouvoir réducteur du fer par les extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur la réduction du fer.

Valeur de P globale par rapport au BHA est $p \leq 0,001$: très significatif. Différentes lettres signifient une différence significative à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

5 Effet antidiabétique des extraits des écorces du citron et de l'orange

Deux tests ont été réalisés pour évaluer l'activité antidiabétique : l'activité de l' α -amylase et la capacité d'adsorption au glucose.

5.1 Effet sur l'activité de l' α amylase

L'effet antidiabétique des extraits des écorces du citron et de l'orange sur l'activité de l' α -amylase a été déterminé en utilisant l'acarbose (un antidiabétique oral) comme contrôle positif, qui a montré un pourcentage d'inhibition de 93,47% à une concentration de 167 μ g/mL (**tableau n°17** et **figure n°15 (a)**). Ce composé présente une IC₅₀ de 6,22 μ g/mL.

Tableau n° 17: Effet de l'acarbose sur l'activité de l' α amylase.

	Concentration de l'acarbose (μ g/mL)						IC ₅₀ (μ g/mL)
	5	10	21	42	83	167	
Le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase (%)	43,99 \pm 0,048	54,30 \pm 0,007	72,16 \pm 0,006	85,57 \pm 0,006	90,38 \pm 0,003	93,47 \pm 0,003	6,22 \pm 0,027

Les résultats de l'effet des différentes concentrations des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α -amylase exprimés en pourcentage d'inhibition sont représentés dans le **tableau n°18** et la **figures n°15 (b et c)**.

Tous les extraits ont montré un effet inhibiteur de l'activité de l' α amylase remarquable, à l'exception de l'effet du citron séché qui présente une IC₅₀ élevée (1295,19 μ g/mL). Dans les extraits des écorces à l'état frais, on remarque que l'extrait de mélange citron-orange révèlent le pourcentage d'inhibition le plus élevée 78,76% à la concentration 667 μ g/mL avec une IC₅₀ de 253,12 μ g/mL, suivi par l'extrait de l'orange à la même concentration montrant un pourcentage de 57,87%, avec IC₅₀ de 354,51 μ g/mL. Pour la même concentration, le pourcentage d'inhibition arrive à 55,09 % pour l'extrait du citron avec IC₅₀ de 435,58 μ g/mL.

Concernant les extraits des écorces à l'état séché, on observe un pourcentage d'inhibition élevée dans l'extrait du mélange citron-orange qui arrive à 48,67% (IC₅₀ = 684,11 μ g/mL), suivi par l'extrait du citron avec un pourcentage de 44,14% (IC₅₀ = 1295,19 μ g/mL). L'extrait de l'orange assure un pourcentage d'inhibition de 42,59 % (IC₅₀ = 870,4 μ g/mL).

Tableau n° 18: Effet inhibiteur des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α amylase exprimé en pourcentage (%).

		Concentration des extraits ($\mu\text{g/mL}$)						IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Valeur de <i>p</i> globale
		60	80	133	267	333	667		
Frais	Citron	15,28 ± 0,006	26,39 ± 0,006	37,5 ± 0,015	41,67 ± 0,006	45,83 ± 0,006	55,09 ± 0,009	435,58 ± 0,007	<i>p</i> ≤ 0,001
	Orange	16,67 ± 0,006	29,17 ± 0,01	40,28 ± 0,015	45,83 ± 0,017	48,61 ± 0,017	57,87 ± 0,009	354,51 ± 0,013	
	Mélange citron- orange	33,63 ± 0,025	38,94 ± 0,026	43,36 ± 0,01	51,33 ± 0,006	55,46 ± 0,007	78,76 ± 0,017	253,12 ± 0,008	
Séché	Citron	26,85 ± 0,053	32,41 ± 0,021	37,04 ± 0,012	39,51 ± 0,012	41,67 ± 0,006	44,14 ± 0,003	1295,19 ± 0,002	
	Orange	20,37 ± 0,023	23,15 ± 0,015	25 ± 0,01	29,63 ± 0,031	31,48 ± 0,035	42,59 ± 0,017	870,4 ± 0,009	
	Mélange citron- orange	29,2 ± 0,017	31,86 ± 0,012	38,94 ± 0,012	43,07 ± 0,003	44,25 ± 0,015	48,67 ± 0,006	684,11 ± 0,003	

p ≤ 0,001 est très significatif

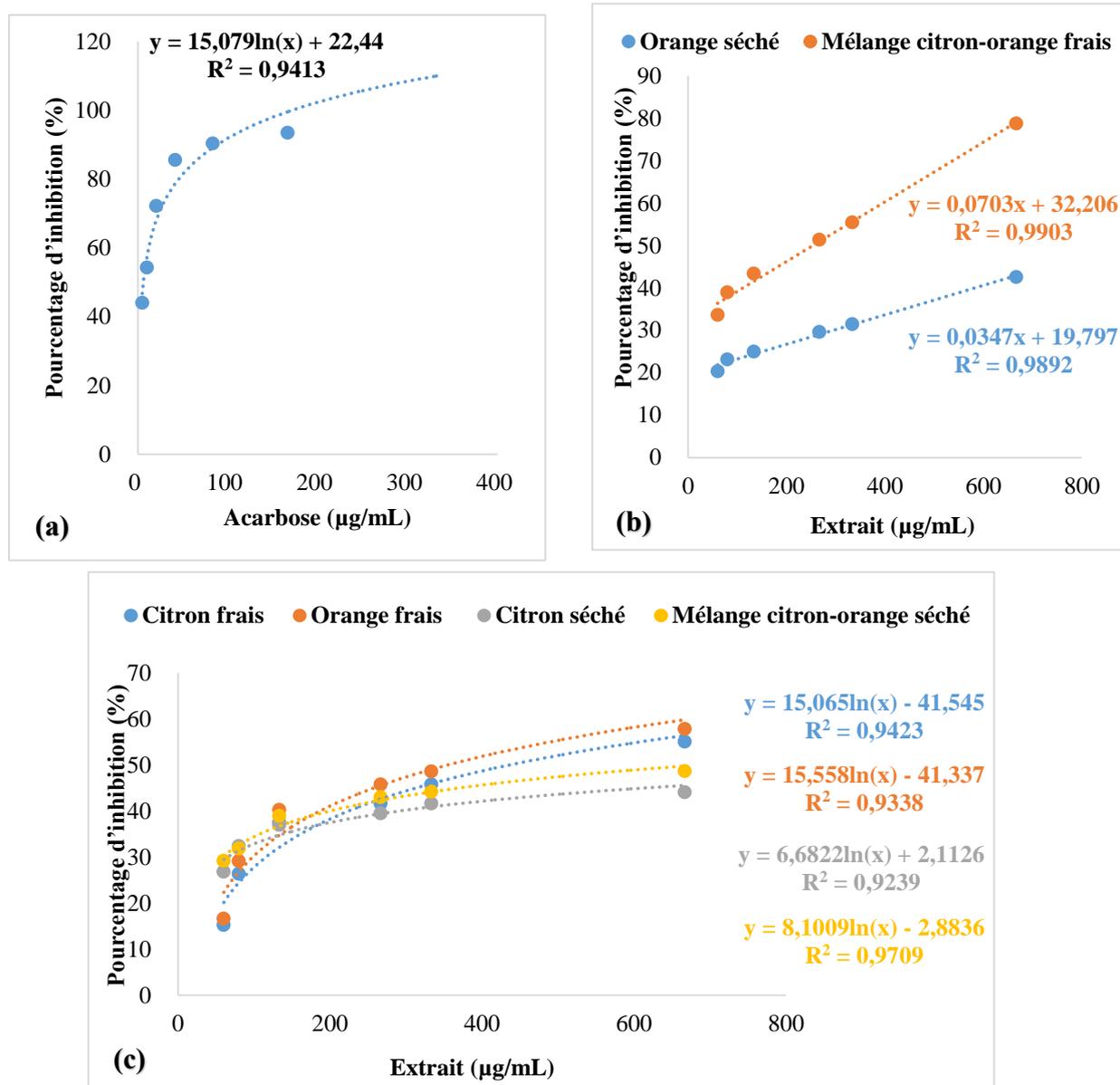


Figure n° 15: Effet inhibiteur des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α amylase.

D'après les résultats obtenus, on constate que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits. Ainsi, on note que les extraits à l'état frais présentent un meilleur effet inhibiteur sur l'activité de l' α -amylase qu'à l'état séché. En revanche, la comparaison des valeurs de IC_{50} pour les différents extraits (**figure n°16**) a révélé que l'extrait de mélange citron-orange à l'état frais assure la valeur la plus importante ($253,12\mu\text{g/mL}$) par rapport aux autres extraits. L'acarbose a significativement inhibé l'activité de cette enzyme ($6,22\mu\text{g/mL}$).

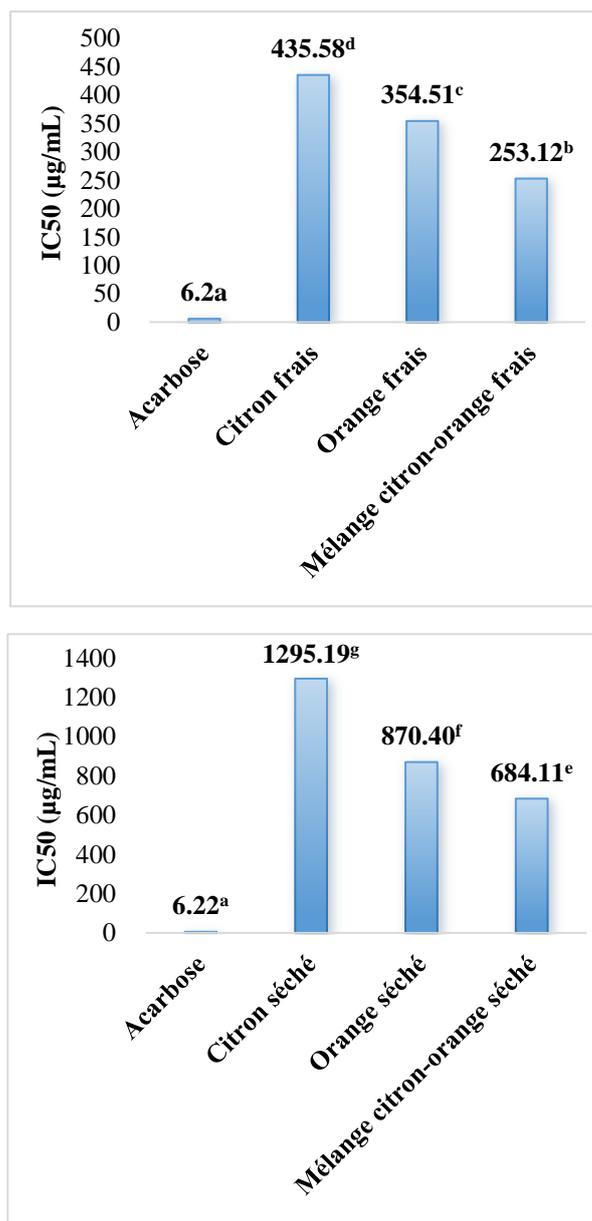


Figure n° 16: Valeurs IC50 de l'effet antidiabétique des extraits des écorces du citron, de l'orange fraîches et séchées, et de leurs mélanges sur l'activité de l' α amylase.

Valeur de P globale par rapport au acarbose est $p \leq 0,001$: très significatif, Différentes lettres signifient une différence significative à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

5.2 Effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur l'adsorption au glucose

Afin de déterminer l'activité antidiabétique des extraits des écorces du citron, de l'orange, frais et séchée et de leurs mélanges, nous avons évalué l'effet de chaque extrait sur la

capacité d'adsorption du glucose. L'acide gallique et l'acarbose ont été utilisés comme contrôles positifs. Les résultats obtenus sont affichés dans les **figures n°17, n°18, n°19, n°20, n°21 et n°22**.

L'acide gallique et l'acarbose, présentent un effet adsorbant au glucose proportionnel à la concentration du glucose après 1h et 3h d'incubation (**Figure n°17 et n°18**). Après 1h d'incubation, l'acide gallique et l'acarbose assurent une faible adsorption au glucose estimée de 0,98mM/g et 0,31mM/g, respectivement à la concentration 5mM de glucose, 1,95mM/g et 0,66mM/g à la concentration de 10mM de glucose. A forte concentration de glucose 50mM et 100mM, l'acide gallique présente une forte adsorption qui arrive à 8,27mM/g et 17,34mM/g, tandis que l'acarbose atteint un taux de 3,29mM/g et 7,78mM/g, respectivement.

Après 3h d'incubation. L'acide gallique et l'acarbose montrent une faible adsorption au glucose, qui varie entre 0,31mM/g et 1,99mM/g pour les concentrations 5mM et 10mM de glucose. Aux concentrations élevées 50mM et 100mM, l'acide gallique présente une adsorption significativement plus élevée, 8,88mM/g et 17,73mM/g, respectivement, tandis que l'acarbose arrive à 3,42mM/g et 7,88mM/g, respectivement. Selon ces résultats, il est constaté qu'il n'y a pas de différence entre l'effet observé après 1h et après 3h d'incubation. Ce qui nous renseigne sur la capacité d'adsorption au glucose qui peut avoir dans les premières heures d'incubation.

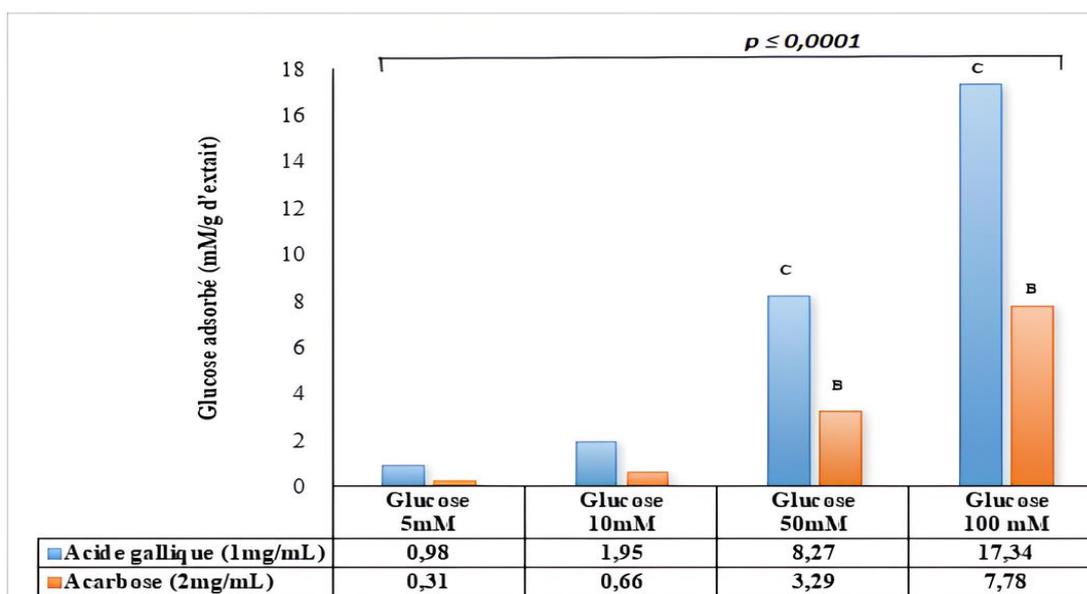


Figure n° 17: Capacité d'adsorption au glucose de l'acide gallique et de l'acarbose après 1h d'incubation.

Valeur de P globale par rapport à l'acarbose est $p < 0,0001$: très significatif, Différentes lettres signifient une différence significative à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

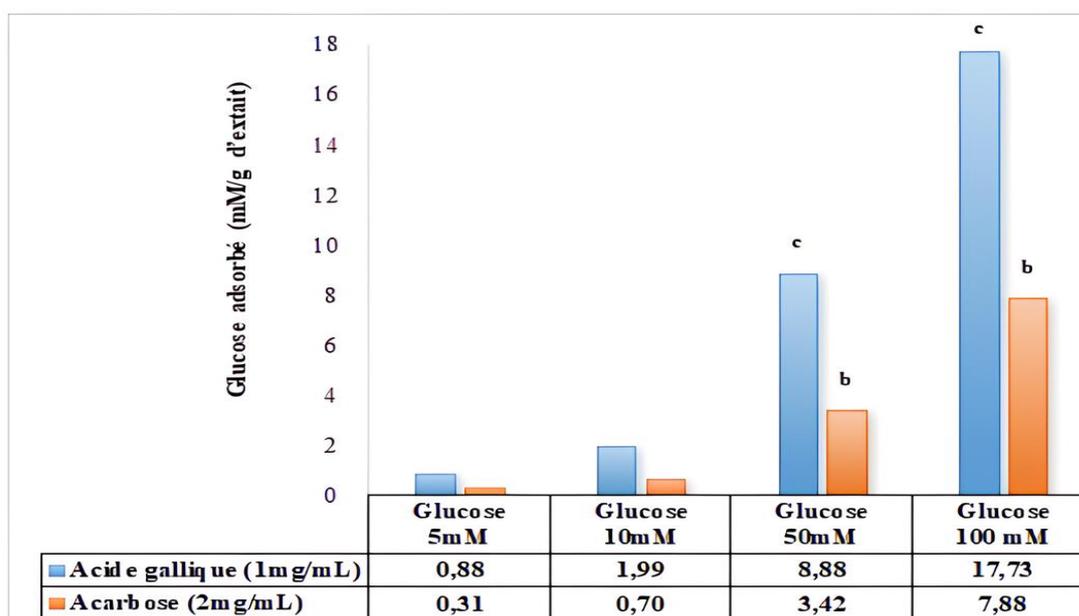


Figure n° 18: Capacité d'adsorption au glucose de l'acide gallique et de l'acarbose après 3h d'incubation.

Valeur de P globale par rapport à l'acarbose est $p < 0,0001$: très significatif, Différentes lettres signifient une différence significative à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

L'effet des extraits des écorces du citron et de l'orange sur la capacité d'adsorption au glucose après 1h et 3h d'incubation est représenté dans les **figures n°19, n°20, n°21 et n°22**.

Selon ces résultats, est contrairement aux contrôles positifs les extraits des écorces fraîches ou séchées ainsi que leurs mélanges ne présentent aucun effet adsorbant à faibles concentrations de glucose 5 et 10mM après 1h ou 3h d'incubation. L'effet devient considérable aux concentration 50 et 100mM. A ces concentrations les extraits des écorces fraîches du citron, de l'orange, et de leur mélange assurent une adsorption au glucose qui varie entre 0,60mM/g et 1,62mM/g après 1h d'incubation. Même après 3h d'incubation ces valeurs ne changent pas significativement. Concernant les extraits des écorces séchées, les taux de glucose adsorbé après 1h d'incubation varient entre 0,61 et 1,60mM/g. Après 3h d'incubation le taux de glucose adsorbé est entre 0,61 et 1,57mM/g.

Ce qui nous renseigne sur la capacité d'adsorption au glucose qui peut avoir dans les premières heures d'incubation.

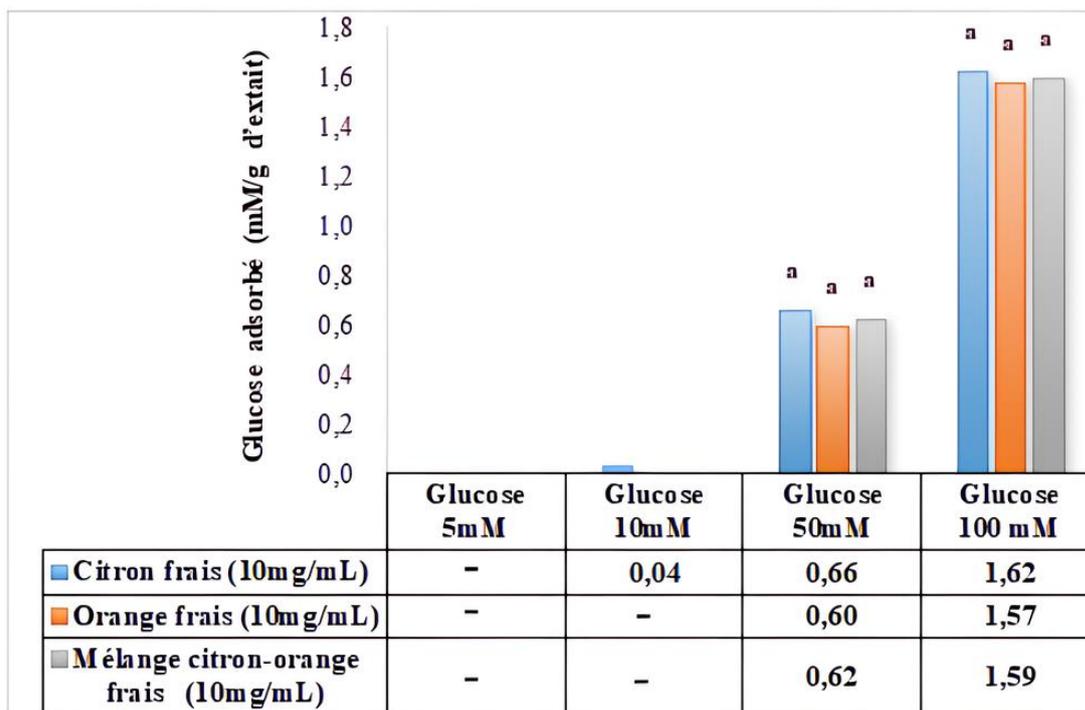


Figure n° 19: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces fraîches du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 1h d'incubation.

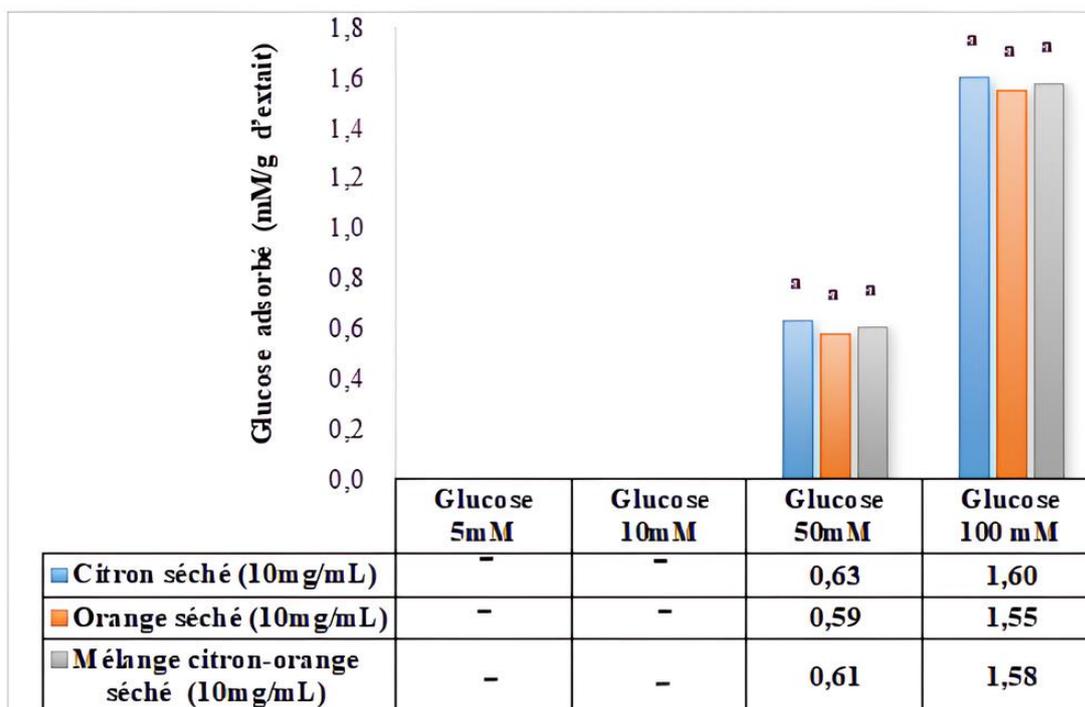


Figure n° 20: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces séchées du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 1h d'incubation.

Valeur de P globale par rapport au acarbose est $p < 0,0001$: très significatif, Les lettres signifient une même effet à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

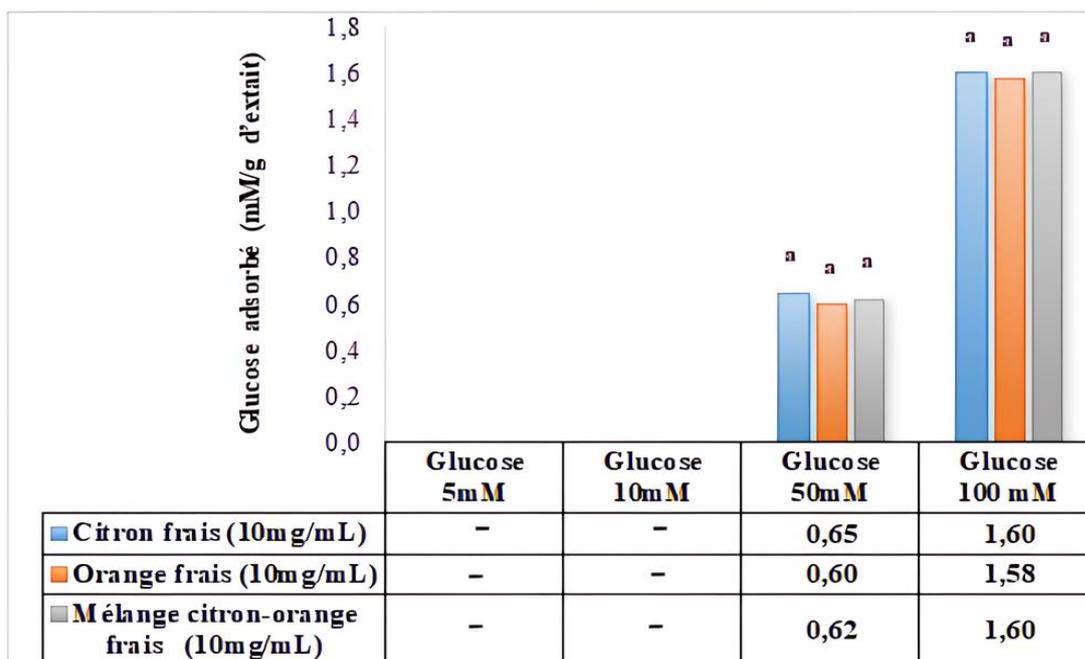


Figure n° 21: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces fraîches du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 3h d'incubation.

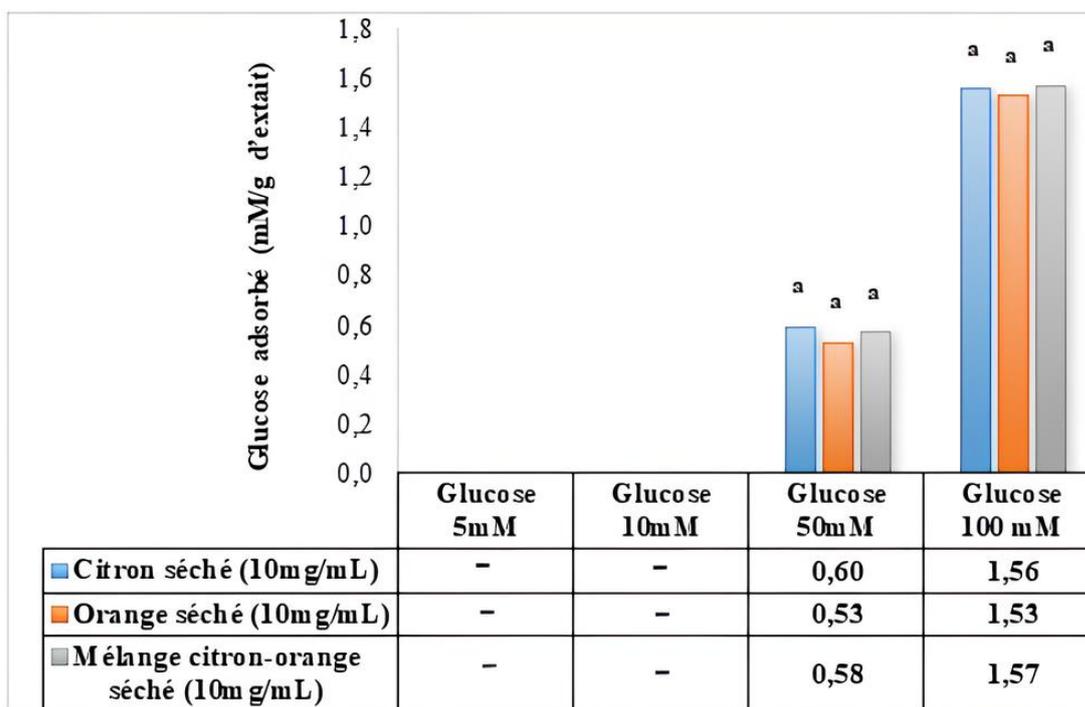


Figure n° 22: Capacité d'adsorption au glucose des extraits des écorces séchées du citron, de l'orange et de leurs mélanges après 3h d'incubation.

Valeur de P globale par rapport au acarbose est $p < 0,0001$: très significatif, Les lettres signifient une même effet à $p = 0,05$ selon test de Tukey à portées multiples.

Discussion

Au cours de cette étude, nous sommes intéressés à l'étude phytochimique, le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés et à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante (tests du DPPH et FRAP) et antidiabétique (test à l' α -amylase et la capacité d'adsorption au glucose) des extraits préparés à partir des écorces fraîches et séchées du citron, de l'orange et de leurs mélanges.

Malgré l'utilisation du même solvant d'extraction (eau-éthanol), on a constaté une variation des rendements d'extraction entre les quatre échantillons. À l'état frais, l'extrait du citron a donné le rendement le plus faible de 4,63%, tandis que l'extrait d'orange a donné un rendement de 5,1%, ce faible rendement est dû à la présence d'eau dans les écorces frais, ce qui diminue le rendement d'extraction. L'ensemble des extraits frais ont été récupérés sous forme de pâte de couleur marron. Ce résultat de rendement reste moins élevé que celui de **Baroudi et Belghit ; (2023)** dans l'extrait aqueux du fruit du citron frais qui a donné un rendement de 5,81%. À l'état séché, l'extrait de citron a un rendement de 11,37%, alors que l'extrait d'orange est le plus élevé avec un rendement de 15,72% et l'ensemble des extraits séchés ont été récupérés sous forme de pâte solide de couleur marron. Les écorces séchées contiennent moins d'eau que les écorces fraîches, ce qui augmente le rendement d'extraction. Ces valeurs sont inférieures aux résultats obtenus par **Tigrine Nadir, (2016)** pour les extraits éthanoliques des écorces séchées du citron et de l'orange, qui sont de l'ordre de 18%, 33,6%. Le rendement de l'extrait brut au méthanol (extrait au Soxhlet) de l'écorce des oranges obtenue par **Musa et al., (2019)**, qui est de 15%, corrobore nos résultats. Selon **Djenane D. (2015)**, la différence de rendement peut être due à divers facteurs tels que l'origine géographique, la méthode d'extraction, les solvants d'extraction utilisés, la période de récolte, la maturité des fruits, ainsi que les conditions expérimentales.

Les tests phytochimiques effectués sur les extraits des écorces du citron et de l'orange à l'état frais et séché ont permis de révéler la présence de flavonoïdes, de quinones libres, de tanins, de saponines et de composés réducteurs dans tous les extraits préparés avec

l'absence de terpénoïdes et des alcaloïdes. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Musa et al., (2019)** qui ont constaté la présence de tanins, de flavonoïdes et de saponosides, ainsi que l'absence d'alcaloïdes dans l'extrait méthanolique de l'écorce d'orange (extrait de Soxhlet).

Les travaux de **Baroudi et Belghit ; (2023)**, ont révélé la présence de flavonoïdes, de saponosides, de composés réducteurs et de terpénoïdes dans l'extrait du citron, ainsi que l'absence d'alcaloïdes et de quinones libres.

Le dosage phytochimique des extraits des écorces fraîches et séchées ont révélé des taux significatifs des composés phénoliques. Les extraits à l'état frais ont montré des taux élevés en polyphénols, avec $67,51 \pm 0,025$ µg EAG/mg E dans l'extrait du citron, $65,22 \pm 0,013$ µg EAG/mg E dans l'extrait de l'orange, et $61,68 \pm 0,044$ µg EAG/mg E dans le mélange citron-orange. Les résultats de **Gorinstein et al., (2001)** ont montré des teneurs en polyphénols supérieures à notre étude pour l'extrait aqueux de pelé de citron et d'orange ($164 \pm 10,3$; $154 \pm 10,2$ µg EAG/ mg d'extrait respectivement), et pour les écorces frais de citron et d'orange montent des valeurs de $190 \pm 10,6$; $179 \pm 10,5$ µg EAG/ mg d'extrait respectivement, cela a été expliqué par la variation des concentrations en polyphénols d'une partie végétale à autre.

Les extraits à l'état séché ont affiché des taux comparables, avec $62,51 \pm 0,011$ µg EAG/mg E pour le citron, $55,84 \pm 0,06$ µg EAG/mg E pour l'orange, et $54,18 \pm 0,032$ µg EAG/mg E pour le mélange citron-orange. **Molan et al., (2016)** ont constaté une teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques de l'écorce de *Citrus sinensis* inférieure à nos résultats, avec une valeur de $25,9 \pm 1,7$ µg EAG/mg MS. Les extraits méthanoliques des zestes d'agrumes séchées ont montré que *C. limonum* est plus riche en composés phénoliques ($32,92 \pm 4,17$ µg EAG/mg) que *C. sinensis* ($23,27 \pm 0,79$ µg EAG/mg) (**Doukani et Tabak, 2017**).

Selon les résultats obtenus, les extraits de citron contiennent une teneur en polyphénols totaux significativement plus élevée que ceux de l'orange, ces résultats concordent avec ceux obtenus dans des études antérieures sur la teneur totale de polyphénols de citrus

(Gorinstein et al., 2001). Les résultats de Raache et Bouafia ; (2023) indiquent clairement que l'écorce frais possède une teneur en polyphénols supérieure à celle de l'écorce de l'orange sèche, cette différence peut être attribuée à la perte d'une certaine quantité de polyphénols au cours du processus de séchage.

En ce qui concerne les flavonoïdes, les teneurs étaient relativement modestes. Pour les extraits frais, le citron avait le taux le plus élevé avec $26,46 \pm 0,019 \mu\text{g EC/mg E}$, suivi de l'orange avec $18,51 \pm 0,017 \mu\text{g EC/mg E}$, et du mélange citron-orange avec $22,48 \pm 0,026 \mu\text{g EC/mg E}$. Baroudi et Belghit ; (2023) montre que l'extrait aqueux du citron frais a révélé un taux de $14,05 \mu\text{g EC/mg E}$ des flavonoïdes. À l'état séché, les taux de flavonoïdes étaient de $21,16 \pm 0,034 \mu\text{g EC/mg E}$ pour le citron, $9,9 \pm 0,026 \mu\text{g EC/mg E}$ pour l'orange, et $13,87 \pm 0,035 \mu\text{g EC/mg E}$ pour le mélange citron-orange. Selon Ibelhoulen et Tighzert ; (2016), l'écorce de citron séché contient $23,3 \pm 0,61 \mu\text{g EQ/mg ES}$ de flavonoïdes, tandis que l'écorce d'orange séchée en contient $14,69 \pm 0,23 \mu\text{g EQ/mg ES}$ de flavonoïdes, avec l'éthanol comme solvant d'extraction. La variation de la teneur en flavonoïdes chez le citron et l'orange a également été rapportée par d'autres chercheurs (Ghasemi et al., 2009 ; Ramful et al., 2010).

Concernant les tanins, les extraits frais présentaient des taux moyens avec $40,17 \pm 0,055 \mu\text{g EC/mg E}$ pour le citron, $56,37 \pm 0,032 \mu\text{g EC/mg E}$ pour l'orange, et $10,66 \pm 0,015 \mu\text{g EC/mg E}$ pour le mélange citron-orange. Baroudi et Belghit ; (2023) ont observé un taux non déterminé en tanins condensés. Les extraits séchés montraient des teneurs en tanins plus élevées : $73,15 \pm 0,072 \mu\text{g EC/mg E}$ pour le citron, $87,04 \pm 0,017 \mu\text{g EC/mg E}$ pour l'orange, et $70,26 \pm 0,096 \mu\text{g EC/mg E}$ pour le mélange citron-orange. Les résultats de Kheloufi et Kicher ; (2020) montrent des quantités de tanins condensés de $3,250 \mu\text{g EqC/mg MS}$ pour l'extrait obtenu par bain-marie et de $1,919 \mu\text{g EqC/mg MS}$ pour l'extrait obtenu par micro-ondes de l'écorce de *Citrus x paradisi*.

À notre connaissance, les études rapportées sur la teneur en tanins présents dans l'écorce des espèces étudiées sont rares.

Dans le but d'étudier l'activité antioxydante des extraits des écorces de citron et d'orange à l'état frais et séché, nous avons évalué leur effet antiradicalaire grâce au radical DPPH et leur pouvoir réducteur du fer en utilisant la méthode FRAP. Les résultats obtenus pour déterminer l'activité antioxydante des écorces à l'état frais, à une concentration de 250 µg/mL, assurent une forte réduction du DPPH pour les extraits de mélange citron-orange, de citron et d'orange, avec des valeurs respectives de 97,1 %, 87,24 % et 71,19 %. Pour les écorces à l'état séché, à la même concentration, les extraits de mélange citron-orange, de citron et d'orange assurent également une réduction très importante du DPPH, avec des pourcentages de 89,86 %, 76,39 % et 69,44 % respectivement. Les valeurs de IC₅₀ déterminées pour les extraits des écorces à l'état frais montrent les valeurs les plus faibles pour le mélange citron-orange, le citron et l'orange, avec des résultats de 28,05 µg/mL, 99,95 µg/mL et 140,05 µg/mL respectivement. L'étude faite par **Baroudi et Belghit ; (2023)** sur l'extrait aqueux de citron frais a révélé une valeur d'IC₅₀ de 5,78 µg /ml, indiquant une forte activité antioxydante par rapport à nos résultats.

Concernant les écorces à l'état séché, les extraits de mélange citron-orange, de citron et d'orange révèlent des valeurs de 109,59 µg/mL, 136,85 µg/mL et 151,62 µg/mL respectivement. **Ghasemi et al., (2009)** ont montré que l'activité anti-radicalaire des écorces séchées de citron et d'orange avait des valeurs d'IC₅₀ de 1400 µg/ml et 1100 µg/ml respectivement, indiquant une faible activité antioxydante par rapport à nos résultats.

Nous avons observé qu'à l'état frais, le mélange citron-orange présente le plus fort potentiel de réduction du fer, avec une EC₅₀ de 642,29 µg/mL, suivi par l'extrait de citron (EC₅₀ = 787 µg/mL) et l'extrait d'orange (EC₅₀ = 993,6 µg/mL). Ces valeurs restent supérieures aux l'extrait du citron obtenus par **Baroudi et Belghit ; (2023)** qui a montré une valeur de EC₅₀ de 115,65 µg/mL.

En revanche, à l'état séché, bien que l'extrait du mélange citron-orange montre encore une activité significative avec une EC₅₀ de 753,17 µg/mL, les valeurs sont généralement plus élevées par rapport aux écorces frais. L'extrait du citron présente une EC₅₀ de 945 µg/mL

et celui d'orange de 980,8 µg/mL. D'après **Sadoun et Si Tahar (2023)** la capacité réductrice du Fer par les extraits aqueux des feuilles d'orange et de citron présente des valeurs d'IC₅₀ de 973±4,35 µg/mL et 1007±11,78µg/mL, respectivement, et qui sont plus élevée que nos résultats. **Muthiah et al., (2012)** ont montré une activité plus élevée comparativement à nos résultats (707,16 ± 0,44 µg/mL pour le citron et 586,66 ± 1,20 µg/mL pour l'orange). L'étude de **Hamidi et Limam ; (2018)** a montré un très faible potentiel réducteur du fer par les extraits des écorces du citron et d'orange, avec des valeurs de EC₅₀ très élevées de 49939 µg/mL et 49961 µg/mL, respectivement.

Pour l'activité antidiabétique, nous avons réalisé des tests *in vitro* pour évaluer l'effet des extraits frais et séchés des écorces du citron et de l'orange sur l'activité de l'α-amylase et la capacité d'adsorption au glucose. Les résultats obtenus ont révélé que le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement à la concentration des extraits. De plus, les extraits des écorces à l'état frais sont plus efficaces que les extraits à l'état séché. À l'état frais, l'extrait du mélange citron-orange a révélé le pourcentage d'inhibition le plus élevé (78,76 %) avec une IC₅₀ de 253,12 µg/mL, suivi par l'extrait de l'orange qui révèle une IC₅₀ de 354,51 µg/mL et du citron qui montre une IC₅₀ de 435,58 µg/mL. À l'état séché, l'extrait du mélange citron-orange reste le plus efficace (48,67 %) avec IC₅₀ de 684,11 µg/mL, suivi par l'extrait de l'orange (IC₅₀ = 870,4 µg/mL) et du citron (IC₅₀ = 1295,19 µg/mL). **Oboh et al., (2017)** ont constaté d'après leur étude que les huiles essentielles d'écorces d'orange (IC₅₀ = 11,51 µg/mL) présentaient une capacité moins élevée à inhiber l'activité de l'α-amylase par rapport aux écorces du citron (IC₅₀ = 8,16 µg/mL).

Nos résultats ont montré que les extraits présentent une forte activité andiabétique par rapport aux résultats trouvés par **Uddin et al., (2014)** qui ont révélé à une concentration de 500 µg/mL, un pourcentage d'inhibition de l'α-amylase par l'extrait méthanolique de 28,71% avec IC₅₀ égale à 3638 ± 0,190 µg /mL, et à une concentration de 250 µg/mL de l'acarbose, le pourcentage d'inhibition de l'α-amylase était de 55,38% avec une IC₅₀ égale 912 ± 0,015 µg/mL dans le fruit de *citrus macroptera*.

Khalpha et Hamrouche ; (2013) ont montré que l'extrait des résidus séchés d'orange a enregistré une IC_{50} supérieure à 400 $\mu\text{g/mL}$.

Les valeurs de IC_{50} obtenues pour chaque extrait sont supérieures à celle de la molécule de référence l'acarbose qui est de 6,22 $\mu\text{g/mL}$. Lorsque la valeur de IC_{50} est plus faible, l'activité antidiabétique de l'extrait testé est plus élevée, cela nous a permis de conclure que les extraits des écorces du citron et de l'orange présentent une capacité antidiabétique significative.

L'activité antidiabétique a également été évaluée *in vitro* par le test de la capacité d'adsorption au glucose. Les résultats ont montré que cette capacité des extraits et des molécules de référence à savoir l'acide gallique et l'acarbose, est proportionnelle à la concentration de glucose. Les résultats obtenus, après 1 heure d'incubation, les extraits frais ont montré les taux d'adsorption suivants : l'extrait de citron présente des valeurs de 0,04 mM/g, 0,66 mM/g et 1,62 mM/g aux concentrations de 10 mM, 50 mM et 100 mM respectivement. L'extrait d'orange montre des taux de 0,60 mM/g et 1,57 mM/g à 50 mM et 100 mM, tandis que le mélange citron-orange présente des taux de 0,62 mM/g et 1,59 mM/g aux mêmes concentrations. Pour les extraits séchés, l'extrait de citron montre des valeurs de 0,63 mM/g et 1,60 mM/g à 50 mM et 100 mM, l'extrait d'orange affiche des taux de 0,59 mM/g et 1,55 mM/g, et le mélange citron-orange présente des taux de 0,61 mM/g et 1,58 mM/g.

En comparaison, après 3 heure d'incubation, les résultats des extraits des écorces à l'état frais montrent que les concentrations de 50 mM et 100 mM présentent des taux d'adsorption de 0,65 mM/g et 1,60 mM/g respectivement pour l'extrait de citron, de 0,60 mM/g et 1,58 mM/g pour l'extrait d'orange, et de 0,62 mM/g et 1,60 mM/g pour l'extrait de mélange citron-orange. Pour les extraits d'écorces à l'état séché, les concentrations de 50 mM et 100 mM présentent des taux d'adsorption de 0,60 mM/g et 1,56 mM/g respectivement pour l'extrait de citron, de 0,53 mM/g et 1,53 mM/g pour l'extrait d'orange, et de 0,58 mM/g et 1,57 mM/g pour l'extrait du mélange citron-orange.

Ces résultats indiquent que, l'adsorption du glucose augmente légèrement avec le temps d'incubation, mais les différences entre une heure et trois heures ne sont pas significatives. Les extraits frais montrent une capacité d'adsorption légèrement supérieure à celles des extraits séchés, avec des résultats similaires entre les écorces du citron, de l'orange et le mélange citron-orange.

Aucune étude scientifique n'a été réalisée sur le test de capacité d'adsorption du glucose dans les espèces étudiées.

D'après **Garrett et Grisham ; (2000)**, les effecteurs, qui sont des composés pouvant être des activateurs ou des inhibiteurs, peuvent réguler l'activité enzymatique en agissant sur le site actif de l'enzyme, soit directement, soit indirectement.

Les enzymes digestives sont responsables de l'absorption et de la dégradation des sucres. Parmi ces enzymes, l' α -amylase est inhibée par divers composés naturels, comme les polyphénols : les acides phénoliques, les tanins et flavonoïdes. La structure chimique des flavonoïdes, y compris le nombre de cycles et la position des groupes hydroxyles dans la molécule, a un impact considérable sur leur capacité à inhiber α -amylase (**Adjdir S. 2022**). De plus, les flavonoïdes préviennent le diabète en raison de leur effet antioxydante (**Khalifa R et Hamrouche N, 2021**).

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, les extraits des écorces fraîches ont montré une teneur en polyphénols et en flavonoïdes élevée par rapport aux extraits des écorces séchées, qui ont révélé un taux élevé en tanins condensés. Également les extraits des écorces fraîches ont montré une forte activité antiradicalaire et réduction du fer par rapport aux extraits des écorces séchées. De plus, il a été constaté que les extraits des écorces du citron fraîches ou séchées sont plus puissants que les écorces des oranges. Il a été observé également que le mélange des extraits des écorces fraîches ou séchées du citron et de l'orange améliore l'activité antioxydante, et présente un effet inhibiteur de l' α amylase remarquable sans aucun effet d'adsorption sur le glucose.

Ces résultats préliminaires nécessitent d'autres études qui s'intéressent à :

- Améliorer le rendement d'extraction des écorces du citron et de l'orange comme déchets alimentaires en utilisant d'autres méthodes d'extraction, et d'autres solvants organiques.
- Évaluer le pouvoir antioxydant de ces déchets alimentaires par d'autres méthodes *in vivo* et *in vitro*.
- Chercher d'autres propriétés biologiques comme l'activité antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire, antitumorale, anticancéreuse, antimicrobienne...
- Trouver des méthodes simples et rapides pour la valorisation des déchets du citron et de l'orange et leur utilisation dans le domaine agricole (fertilisants, biopesticides...), cosmétique, alimentation des bétails,...

Références bibliographiques

1. **Addou A. (2009).** Traitement des déchets: valorisation, élimination. Ellipses, 95-98.
2. **Adjdir S. (2022).** Etude phytochimique et recherche de l'activité antioxydante, antidiabétique et antimicrobienne des extraits de *Ziziphus jujuba* Mill. et de *Micromeria inodora* (Desf.) Benth. de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
3. **Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007).** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue du rhumatisme*, 74(7), 636-643.
4. **Ajikumaran N.S, Rajani Kurup S.R, Akhila S.N, Sabulai B. (2018).** Citrus peels prevent cancer. *Phytomedicine*, 50, 231-237.
5. **Albagnac G,Varoquaux P, Montigaud J-C. (2002).** Technologies de transformation des fruits, Ed : Lavoisier Paris.
6. **Alsaied A, AE G, MM M, MAA A, HAM B. (2017).** Using of citrus by-products in farm animals feeding. *Open Access*, 1(3), 58-57.
7. **Aprotosoie A.C, Spac A.D, Hancianu M, Miron A, Tanasescu V.F, Dorneanu V, Stanescu U. (2010).** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill). *FARMACIA*, 58(1), 46-54.
8. **Asma et Djouadi Djihane, (2021).** Effets des solvants d'extraction sur la composition chimique de deux fruits de l'hiver : *Citrus sinensis* et *Citrus limon* Said .Mémoire de master en Chimie pharmaceutique. Département de chimie . Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mohamed Khider de Biskra.
9. **Assefa A.T. (2016).** Extraction and characterization of antioxydant from orange peels.
10. **Bampidis V.A, Robinson P.H. (2006).** Citrus by-products as ruminant feeds : a review animal feed science technology, 128(3-4), 175-217.
11. **Baroudi, S., Belghit W. (2023).** Recherche in vitro de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux de *Citrus limon*, *Syzygium aromaticum*, *Zingiber officinale* et de leur formulation polyherbale. Mémoire e Master, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

12. **Belaich, R., Boujraf, S. (2016).** Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Oxidative stress and inflammatory factors in hemodialysis. Médecine des maladies Métaboliques*, 10(1), 38-42.
13. **Bellabas, A. (2009).** Étude de base sur les agrumes en Algérie. Rapport réalisé par consultant national spécialiste en citrus. Projet GTFS/REM/070/ITA Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche Orient. Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, p. 6.
14. **Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W, J., Sener A., (2013).** Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(1), 35-40.
15. **Benedicte ; Michel B. (2011).** Agrumes (comment les choisir et les cultiver facilement), édition Eugen Ulmer, Paris; 6-11, 68-70.
16. **Benfeled, P (1955),** Amylase, and. *Meth. Enzymology*; 1: 149-158.
17. **Bennici A, Tani C. (2004).** Anatomical and ultrastructural study of the secretory cavity development of *Citrus sinensis* and *Citrus limon*: evaluation of schizolysigenous ontogeny. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 199(6), 464-475.
18. **Bicu, I., & Mustata, F. (2011).** Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents. *Bioresource technology*, 102 (21), 10013-10019.
19. **Boucherba, N. (2015).** Valorisation des résidus agro-industriels. Université Abderrahmane Mira de Béjaïa Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Microbiologie.
20. **Boudjema, K., Fazouane-Naimi, F., Hellal, A., & Mechakra, A. (2009).** Optimisation et modèle de production d'acide lactique par *Streptococcus thermophilus* sur lactosérum. *Sciences & Technologie*, 80-90.
21. **Bouguerra, A., & Barkat, M. (2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* mill en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri-Constantine 1.

22. **Bouharoud, R. (2007).** Inventaire, quantification et utilisation potentielle des sous-produits agro-industriels chez les ruminants en Algérie. Mémoire de Magister, Université Saad Dahleb, Blida.
23. **Boukroufa M, Boutekedjiret C, Petigny L, Rakotomanomana N, Chemat F. (2015).** Biorefinery of orange peels waste: Anew concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, Elsevier, 24, 72-79.
24. **Bousbia, N. (2011).** Extraction des antioxydants à partir des produits naturels et de co-produits agroalimentaires, Thèse de doctorat, Ecole Nationale supérieure Agronomique, Ex-INA El Harrach-Alger.
25. **Bouزيد, A., Benabdeli, K., & Bouزيد, K. (2019).** Essai de valorisation des déchets verts de cuisine comme ingrédients pour améliorer la qualité nutritionnelle d'aliments de gallinacés et d'herbivores dans la ville de Mascara (Algérie). *Environnement, Ingénierie & Développement*, N°82-décembre 2019.
26. **Chandrasekaran M, (2013).** Valorization of Food Processing By-Products. CRC Press, Taylor & Francis Group.
27. **Colombo, A., (2004).** La culture des agrumes. Ed. De Vecchi, Paris. 142p.
28. **Defraigne, J. O. (2005).** Un mecanisme physiopathologique central a l'origine des complications du diabete?. *Revue Médicale de Liège*, 60(5-6.May-Jun).
29. **Del-Caro A, Piga A, Vacca V. et Agabbio M. (2004).** Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84(1), 99-105.
30. **Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002).** Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
31. **Djenane, D. (2015).** Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of Algerian citrus essential oils and their application in *Sardina pilchardus*. *Foods*, 4(2), 208-228.

32. **Doukani, K., & Tabak, S. (2017).** Profil phytochimique de quelques espèces de Citrus (*C. aurantium*, *C. sinensis* et *C. limonum*). *Revue Écologie-Environnement*, 13.
33. **Duan L., Guo L., Liu E . H. & Li P. (2014).** Characterization and classification of seven citrus herbs by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines. *J .chromatogr A*. 1339:27-118.
34. **FAO. (2010).** Annual statistique: Citrus.
35. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
36. **Fetoni, A. R., Paciello, F., Rolesi, R., Paludetti, G., & Troiani, D. (2019).** Targeting dysregulation of redox homeostasis in noise-induced hearing loss: oxidative stress and ROS signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 135, 46-59.
37. **Flora, S. J. (2009).** Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(4), 191-206.
38. **Fontaine, É. (2007).** Radicaux libres et vieillissement. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42(2), 110-115.
39. **Gamarra F.M.C, Sakanaka L.S, Tambourgi E.B, and Cabral F.A. (2006).** Influence on the quality of essential lemon (*Citrus aurantifolia*) oil by distillation process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23, 147-151.
40. **Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, M. A. (2009).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*, 22(3), 277-281.
41. **Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z. (2015).** Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(5), 288-294.
42. **Giannuzzo A.N, Boggetti H.J, Nazareno M.A, Mishima H.T. (2003).** Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of *Citrus paradisi*. *Phytochemical Analysis*, 14(4), 221-223.

43. **Gollouin F., TonelliN. (2013).** Des fruits et des grainescomestib le dumonde entier. EditionBrigitte Peyrot Poos, ParisLavoisier SAS. PP, 186-195.
44. **Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Číž, M., ... & Trakhtenberg, S. (2001).** Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food chemistry*, 74(3), 309-315.
45. **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 orangefruit quality. *Plant science*, 174(3), 310-320.
46. **Grohmann, K., Cameron, R. G.,&Buslig, B. S. (1995).** Fractionation andpretreatment of orangepeel by dilute acid hydrolysis. *Bioresource Technology*, 54(2),129-141.
47. **Grysole, J. (2005).** La commercialisation des huiles essentielles in huiles essentielles : de la plante à la commercialisation-Manuel pratique : Chapitre 07. Corporation LASEVE (laboratoire d'analyse, et de séparation, des essences, végétales). Québec, 139-162.
48. **Guillou M. (2013).** Le traitement des déchets. R. Moletta (Ed.). Éd. Tec & doc.
49. **Guimarães, P., & Portugal, P. (2010).** A simple feasible procedure to fit models with high-dimensional fixed effects. *The Stata Journal*, 10(4), 628-649.
50. **Goetz, P. (2014).** Citrus limon (L.) Burm. f.(Rutacées) citronnier. *Phytothérapie*, 12, 116-121.
51. **Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., & Büyükkuroğlu, M. E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urticadioica L.*). *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3), 205–215.
52. **Haleng J, Pincemail J, Defraigne J. O, Charlier C, & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicalede Liège*, 62(10), 628 – 638.
53. **Hamidi F. et Limam F., (2018).** Etude phytochimique et pouvoir antioxydant de l'écorce d'orange et citron. Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.
54. **Hammer K.A, Carson C.F, Riley T.V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plants extracts. *Journal of Applied Microbiology*. 86(6), 985-990.

55. **Harborne, J.B. (1998)**. Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman & hall thomson science (uk). London, 203-234.
56. **Harman, T. C., Goering, H. L., & Beer, A. C. (1956)**. Electrical properties of n-type InAs. Physical Review, 104(6), 1562.
57. **Hequet, V., Le Corre, M., Rigault, F et Blanfort, V. (2009)**. Les espèces Exotiques Envahissantes de Nouvelle-Calédonie. IRD , AMAP , Nouméa. 87.
58. **Hokayem M, Bisbal C, Lambert K, Avignon A. (2012)**. Quelle place pour les antioxydants dans la prévention du diabète de type 2 ?. Médecine Des Maladies Métaboliques, 6(4), 327–331.
59. **Huet R, Ledergerber A. (1962)**. Les pâtes d'oranges. Al Awamia, 3, 103- 112.
60. **Ibelhouen N et Tighzert S. (2016)**. Evaluation in-vitro de l'activité anti-inflammatoire des écorces et des pulpes de *Citrus limon et Citrus sinensis*. Mémoire de master; Université Abderrahmane Mira, Bejaia.
61. **Jabri Karoui I, Marzouk B. (2013)**. Characterization of bioactive compounds in tunisian bitter orange (*Citrus aurantium L.*) peel and juice and determination of their antioxidant activities. Biomed research international, 2013(1), 345415.
62. **Kebaili M. (2019)**. Valorisation des déchets verts et de biomasses en traitement des eaux.
63. **Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999)**. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of agricultural and food chemistry, 47(10), 3954-3962.
64. **Kammoun Bejar A, Ghanem N, Mihoubi D, Kechaou N, Boudhrioua Mihoubi N. (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), 1-25.
65. **Kanonn K., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N. et Atik Bekkara, F. (2014)**. Études comparatives sur les activités antioxydantes des extraits de feuilles, de tiges et de baies de *Myrtus communis L.* International Food Research Journal, 21(5), 1957-1962.

66. **Karagözler, A. A., Erdağ, B., Emek, Y. Ç., & Uygun, D. A. (2008).** Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, (111), 400-407.
67. **Kebieche, M., & Meraihi, Z. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L.: effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. *Biochimie*, These de Doctorat, Université Mentouri Constantine.
68. **Khalpha, R., Hamrouche, N. (2013).** Etude des résidus d'orange (écorce) par la combinaison de deux approches, chimique et biologique. Mémoire de Master, Université des frères Mentouri, Constantine 1.
69. **Khan, M. M., Iqbal, M., Hanif, M. A., Mahmood, M. S., Naqvi, S. A., Shahid, M., & Jaskani, M. J. (2012).** Antioxidant and antipathogenic activities of citrus peel oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(6), 972-979.
70. **Kheloufi, F., & Kicher, S. (2020).** Quantification des composés phénoliques totaux des extraits de l'écorce de *Citrus x paradisi* par deux méthodes comparatives: Micro-ondes et bain Marie. Mémoire de Master. Université A. MIRA, Béjaia.
71. **Khizar H, Xiaoming Z, Umar F, Shabbar A, Shuqin X, Chengsheng J, Fang Z, Jing Z. (2010).** Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. *Food Chemistry*, 123(2), 423–429.
72. **Kim, W. C., Lee, D. Y., Lee, C. H., & Kim, C. W. (2004).** Optimization of narirutin extraction during washing step of the pectin production from citrus peels. *Journal of Food Engineering*, 63(2), 191- 197.
73. **Kohen, R., & Nyska, A. (2002).** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, 30(6), 620-650.
74. **Koui, K., & Lamri, Y. (2020).** Etude des conservateurs et édulcorants et analyse sensorielle de trois marques de jus de fruits, nectars et boissons commercialisés. Mémoire de master, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
75. **Kuljarachanan, T., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2009).** Evolution of antioxidant compounds in lime residues during drying. *Food Chemistry*, 113(4), 944-949.

76. **Ladaniya S.M. (2008).** Citrus fruit biology, technology, and evaluation. Ed: Elsevier, 1-178.
77. **Laoufi, H., Benariba, N., Adjdir, S., & Djaziri, R. (2017).** In vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Ononis angustissima* extracts. Journal of applied pharmaceutical science, 7(2), 191-198.
78. **Larrauri, J., Rupérez, P., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (1996).** High dietary fibre powders from orange and lime peels: associated polyphenols and antioxidant capacity. Food research international, 29(8), 757-762.
79. **Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001).** Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives. La Presse médicale (1983), 30(21), 1076-1081.
80. **Li, H., Wang, X., Li, Y., Li, P., et Wang, H. (2009).** Polyphenolic compounds and antioxidant properties selected Chine wines. Food Chemistry, 112(2), 454-460.
81. **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.
82. **Lu D, Cao Q, Li X, Cao X, Luo, F, Shao, W. (2009).** Kinetics and equilibrium of Cu (II) adsorption onto chemically modified orange peel cellulose biosorbents. Hydrometallurgy, 95(1-2), 145-152.
83. **Meziti, A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo, Mémoire de magister en biochimie appliquée, Option: Molécules Bioactives, Université El-Hajlakhdar Batna, pp 71.
84. **M'hiri N, Ioannou I, Ghoul M, Mihoubi Boudhrioua N. (2014).** Extraction methods of citrus peel phenolic compounds, Food Reviews International, 30(4), 265-290.
85. **M'hiri N, Ioannou I, Mihoubi Boudhrioua N, Ghoul M. (2016).** Phytochemical characteristic of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds : a review. Food Reviews International, 33(6), 587-619.
86. **Migdal, Cand Serres, M. (2011).** Réactive oxygen species and oxidative stress : Med sci (paris) 27(4):405-412.

87. **Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231–237.
88. **Milind, P., & Chaturvedi, D. (2012).** Anti-alzheimer potential of orange juice. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(9), 312-316.
89. **Milind, P., & Dev, C. (2012).** Orange: range of benefits. *International research journal of pharmacy*, 3(7), 59-63.
90. **Mirzaei-Aghsaghali A , Maheri-Sis N. (2008).** Nutritive value of some agro-industrial by-products for ruminants - A review. *World J. Zool*, 3(2), 40-46.
91. **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.
92. **Montagnier L , Olivier R , Pasquier C. (1998).** Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases, Marcel Dekker, New York.
93. **Mrad, N. (2011).** Valorisation des déchets gras de poisson en biocombustible pour moteur diesel. Thèse de doctorat. Université de Nantes France, 145-150.
94. **Musa, D. D., Sangodele, F., & Hafiz, S. S. (2019).** Phytochemical analysis and antibacterial activity of orange (*Citrus sinensis*) peel. *FUDMA JOURNAL OF SCIENCES*, 3(1), 375-380.
95. **Muthiah, P. L., Umamaheswari, M., & Asokkumar, K. (2012).** In vitro antioxidant activities of leaves, fruits and peel extracts of Citrus. *International Journal of Phytopharmacy*, 2(1), 13-20.
96. **Nawel, M. B. (2015).** Valorisation des résidus agro-industriels.
97. **Nicole, T., & François, G. (2013).** Des fruits et des graines comestibles du monde entier. Lavoisier.
98. **Oboh, G., & Ademosun, A. O. (2012).** Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *Journal of food science and technology*, 49, 729-736.

99. **Oboh, G., Olasehinde, T. A., & Ademosun, A. O. (2017).** Inhibition of enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by essential oils from peels of orange and lemon. *International journal of food properties*, 20(sup1), S586-S594.
100. **Okwu, D. E., & Emenike, I. N. (2006).** Evaluation of phytonutrients and vitamins contents of Citrus fruits. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Science*, 2(1), 1-6.
101. **Pham-Huy L.A, He H, & Pham-Huy C. (2008).** Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 4(2), 89–96.
102. **Pierre, M., Jean, K., Ducelier, D., François, D., Paul, H., Chantal, M., Jeun, M., (2001).** Composition Chimique et Activité antifongique in vitro des huiles essentielles de croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*, 57(2) : 95-104.
103. **Piriyaprasarth S, and Sriamornsak P. (2011).** Flocculating and suspending properties of commercial citrus pectin and pectin extracted from pomelo (*Citrus maxima*) peel. *Carbohydrates Polymers*. 83(2), 561-568.
104. **Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4(8), 25-39.
105. **Raache, H., & Bouafia, N. (2023).** Étude comparative de deux techniques de séchage au soleil (direct et indirect) sur la qualité de l'écorce d'oranges (Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ourgla).
106. **Ramful, D., Bahorun, T., Bourdonc, E., Tarnusc, E., & Aruoma, O.I.(2010).** Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278(1), 75-87.
107. **Ramful D, Tarnus E , Aruoma O. I, Bourdon E, Bahorun T. (2011).** Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44(7), 2088-2099.
108. **Rezaie A , Parker R. D , Abdollahi M. (2007)** .Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory Bowel Disease : An Epiphenomenon or the cause ?. *Digestive diseases and*

sciences, 52, 2015-2021.

109. **Rezzoug S.A, Maache Z, Allaf K. (2007).** Etude de la disponibilité de la pectine extraite à partir d'écorces d'oranges suite à un prétraitement thermomécanique. Récents Progrès en Génie des procédés -Numéro 96.

110. **Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6), 419-424.

111. **Roussel, T. N. G., Laure, N. J., & Enyong, O. J. (2020).** Antioxidant and Glucose Lowering Effects of Hydroethanolic Extract of *Baillonella toxisperma* Pulp. Journal of Food Research, 9(2).

112. **Sadoun, F., & Si Tahar, M. (2023).** Etude comparative de l'activité antioxydante des agrumes. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri, Tizi- Ouzou.

113. **Sahraoui, N., Vian, M. A., El Maataoui, M., Boutekedjiret, C., & Chemat, F.(2011).** Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD). Innovative Food Science Emerging Technologies, 12(2), 163-170.

114. **Schwob R., and Huet R. (1965).** Valorisation des sous-produits d'agrumes. Fruits, 20(7), 349- 353.

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

116. **Sies, H. (1991).** Oxidative stress: from basic research to clinical application. The American journal of medicine, 91(3), S31-S38.

117. **Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. (2013).** Oxidative stress and cancer: an overview. Ageing research reviews, 12(1), 376-390.

118. **Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(10), 4267-4274.

119. **Tigrine, N. (2016).** Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de *Citrus limon* et *Citrus sinensis*. Mémoire de master, Université Abderrahmane Mira, Bejaïa.

120. **Trease G. E., Evans W. C. (1989).** Pharmacognosy (13th edn). BailliereTindall, London, 176-180.

121. **Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D., & Giammanco, M. (2007).** Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*, 104(2), 466–479.
122. **Uddin, N., Hasan, M. R., Hossain, M. M., Sarker, A., Hasan, A. N., Islam, A. M., ... & Rana, M. S. (2014).** In vitro α -amylase inhibitory activity and in vivo hypoglycemic effect of methanol extract of Citrus macroptera Montr. fruit. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(6), 473-479.
123. **Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
124. **Valnet J. (2001).** La santé par les fruits, legumes et les cereals. Ed Vigot, 207.
125. **Vermerris W., Nicholson R. (2006).** Isolation and Identification of Phenolic Compounds. *Phenolic Compound Biochemistry*, 151-196.
126. **Virbel-Alonso, C. (2011).** Citron et autres argumes. Un concentré d’astuces pourvotre maison ,votre santé ,votre beauté.Edition eyrolles.
127. **Wang X, Chen Q, and Lü X. (2014).** Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. *Food Hydrocolloids*, 38, 129-137.
128. **Wang, Y. C., Chuang, Y. C., & Ku, Y. H. (2007).** Quantitation of bioactivecompounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. *Food chemistry*, 102(4), 1163-1171.

ملخص

استغلال النفايات الغذائية، بالخصوص قشور الحمضيات مثل "*Citrus limon*" و "*Citrus sinensis*" تجد تطبيقات متنوعة في العديد من الصناعات، بما في ذلك الصناعات الغذائية والأغذية الزراعية ومستحضرات التجميل والأدوية. وقد ركزت العديد من الدراسات العلمية على استغلال قوائد هذه المواد المضادة للأكسدة ومضادة لمرض السكر وغيرها.

الهدف الرئيسي لعملنا الحالي هو بحث في المختبر لمضادات الأكسدة والنشاط المضاد لمرض السكر في مستخلصات الإيثانول المائي من القشور الطازجة والمجففة "*Citrus limon*" (الليمون) و "*Citrus sinensis*" (البرتقال) وخليطها.

وأظهر الفحص الكيمائي النباتي غنى المستخلصات الستة بالعفص والفلافونويد والكينونات الحرة والصابونين والمركبات المختزلة. تحدد جرعة المركبات الفينولية مستوى عال من مادة البوليفينول و المجموع الفلافونويد (67.51 ميكروغرام مكافئ حمض غاليك/ميلي غرام؛ 26.46 ميكروغرام مكافئ حمض كاتشين/ميلي غرام على التوالي في مستخلص قشور الليمون الطازج؛ و 87.04 ميكروغرام مكافئ حمض كاتشين/ميلي غرام من العفص في مستخلص قشور برتقال الليمون المجففة.

كشفت نتائج النشاط المضاد للأكسدة عن نشاط قوي مضاد للجذور على DPPH ولا سيما مستخلص خليط قشور الليمون والبرتقال الطازجة الذي وصل إلى (IC₅₀=28.05 ميكروغرام/مل)، بالإضافة إلى قوة ارجاع الحديد المثيرة للاهتمام (= 642.2950EC ميكروغرام/مل). وفيما يتعلق بالنشاط المضاد لمرض السكر، فإن مستخلص الماء والإيثانول من القشور الطازجة لخليط الليمون والبرتقال أظهر تأثيراً مثبطاً مثبثاً للاهتمام على نشاط ألفا أميليز مقارنة بالمستخلصات الأخرى، حيث بلغت قيمة IC₅₀ 253.1250 ميكروغرام/مل. حيث أن جميع المستخلصات المدروسة أظهرت تأثيراً ضعيفاً جداً على قدرة امتصاص الجلوكوز، على عكس حامض الغاليك والأكاربوز اللذين أظهرتا تأثيراً مهماً جداً في امتصاص الجلوكوز.

وفي ضوء هذه النتائج الأولية، لاحظنا ضرورة استغلال الخصائص العلاجية لبقايا قشور الحمضيات الطازجة، ولا سيما نشاطها المضاد للأكسدة والمضاد لمرض السكر.

الكلمات الدالة: قشور الليمون، قشور البرتقال، المركبات الفينولية، DPPH، FRAP، ألفا أميليز، امتصاص الجلوكوز.

Résumé

La valorisation des déchets alimentaires, en particulier les écorces d'agrumes tels que "*Citrus limon*" et "*Citrus sinensis*", trouvent des applications variées dans plusieurs industries, notamment l'industrie alimentaire, agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. De nombreux travaux scientifiques se sont intéressés à exploiter les propriétés antioxydantes, antidiabétiques et autres bienfaits de ces matériaux.

L'objectif principal de notre présent travail consiste à la recherche in vitro de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits eau-éthanol des écorces fraîches et séchées de *Citrus limon* (le citron), de *Citrus sinensis* (l'orange) et leur mélange.

Le screening phytochimique a montré la richesse des six extraits en tanins, flavonoïdes, quinones libres, saponines et composé réducteur. Le dosage des composés phénoliques a déterminé un taux élevé en polyphénols totaux, et en flavonoïdes (67,51 µg EGA/mg E ; 26,46 µg EC/mg E, respectivement dans l'extrait des écorces fraîches du citron ; et 87,04 µg EC/mg E de tanins dans l'extrait des écorces séchées de l'orange).

Les résultats de l'activité antioxydante ont révélé une forte activité antiradicalaire sur le DPPH en particulier l'extrait du mélange des écorces fraîches citron-orange qui arrive à une IC₅₀=28,05 µg/mL, ainsi qu'un pouvoir réducteur du fer intéressant (EC₅₀=642,29 µg/mL). Concernant l'activité antidiabétique, l'extrait eau-éthanol des écorces fraîches du mélange citron-orange a montré un effet inhibiteur de l'activité α-amylase très intéressant par rapport aux autres extraits, avec une valeur IC₅₀ de 253,12 µg/mL. Tandis que, l'ensemble des extraits étudiés ont présenté un très faible effet sur la capacité d'adsorption au glucose, contrairement à l'acide gallique et l'acarbose qui ont montrés un effet adsorbant au glucose très important. A la lumière de ces résultats préliminaires, nous avons constaté la nécessité d'exploiter les propriétés thérapeutiques des résidus des écorces fraîches d'agrumes, notamment leurs activités antioxydantes et antidiabétiques.

Mots clés : résidus du citron, résidus des oranges, composés phénoliques, DPPH, FRAP, α-amylase, adsorption au glucose.

Abstract

The valorization of food waste, in particular the peels of citrus fruits such as "*Citrus limon*" and "*Citrus sinensis*", have a variety of applications in several industries, including the food, agri-food, cosmetics and pharmaceutical industries. Numerous scientific studies have focused on exploiting the antioxidant, anti-diabetic and other beneficial properties of these materials.

The main objective of our present work is to investigate in vitro the antioxidant and antidiabetic activity of water-ethanol extracts of fresh and dried peels of *Citrus limon* (lemon), *Citrus sinensis* (orange) and their mixture.

Phytochemical screening showed the six extracts to be rich in tannins, flavonoids, free quinones, saponins and reducing compounds. Phenolic compound assays determined high levels of total polyphenols and flavonoids (67.51 µg EGA/mg E; 26.46 µg EC/mg E, respectively in fresh lemon peel extract; and 87.04 µg EC/mg E of tannins in dried orange peel extract).

Results for antioxidant activity revealed strong free radical scavenging activity on DPPH, in particular for the extract of the fresh lemon-orange peel blend, which achieved an IC₅₀=28.05 µg/mL, as well as an interesting iron-reducing capacity (EC₅₀=642.29 µg/mL). With regard to anti-diabetic activity, the water-ethanol extract of the fresh peel of the lemon-orange mixture showed a very interesting inhibitory effect on α-amylase activity compared with the other extracts, with an IC₅₀ value of 253.12 µg/mL. Whereas, all the extracts studied showed a very weak effect on glucose adsorption capacity, unlike gallic acid and acarbose which showed a very significant glucose adsorption effect.

In the light of these preliminary results, we saw the need to exploit the therapeutic properties of fresh citrus peel residues, notably their antioxidant and anti-diabetic activities.

Keywords : lemon residues, orange residues, phenolic compounds, DPPH, FRAP, α-amylase, glucose adsorption.