



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

Laboratoire des Produits Naturels

THÈSE

Présentée par M^{me} BOUZAR KOUADRI Née HARAOUI Nacéra

Pour obtenir le grade de Doctorat LMD En Biologie

Option : Produits naturels aspects nutritionnels et activités biologiques

Thème

Aspects nutritionnels et détermination des activités biologiques des *Citrus*

In vitro et In vivo

Soutenue le : 21-10-2025

Devant le jury composé de

Présidente	Pr.BEKHECHI Chahrazed	Université de Tlemcen
Directrice de thèse	Pr.ALLEM RACHIDA	Université de Chlef
Examineurs	ZAHZEH Touria	✦ Université de Sidi Bel Abbès
	CHAOUCHE Tarik Med	✦ Université de Tlemcen
	HADDOUCHI Farah	✦ Université de Tlemcen

Année universitaire 2024/2025

***« Que ta nourriture soit ton médicament et que ton
médicament soit dans ta nourriture »***

[Hippocrate]

Remerciements

Avant tout, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers ma directrice de thèse., Professeur ALLEM Rachida, En plus de son soutien scientifique, ses qualités morales et humaines ont joué un rôle essentiel dans l'orientation de ma réflexion. Je tiens à exprimer ici ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Madame BEKHECHI Chahrazed, Professeur à l'université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'accorde en acceptant de présider ce jury.

À Madame ZAHZEH Touria, Professeur à l'Université de Sidi Bel Abbès, qui a bien voulu prendre part à ce jury et évaluer ce travail. Qu'elle reçoive ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur Dr CHAOUACHE Tarik Mohamed. Professeur à l'Université de Tlemcen, qui a bien voulu s'intéresser à ce travail et l'examiner. Qu'il découvre ici, l'expression de mon respect et admiration les plus profonds.

Je remercie Madame HADDOUCHI Farah, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle me confère en acceptant de participer à ce jury et d'évaluer ce travail. Je vous prie d'accepter l'expression de mes respectueuses salutations.

Mes plus vifs remerciements sont adressés à Madame ATIK Fouzia, responsable de la Post-graduation à l'Université AbouBekr Belkaid, Tlemcen, Je ne saurai jamais lui être assez reconnaissant pour son aide, sa disponibilité, son indéfectible soutien et sa gentillesse.

Madame Dib-Benamar Hanane Maitre de conférences A à l'Université de Tlemcen, Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers lui pour cette manifestation d'intérêt, ainsi que pour ses qualités humaines remarquables, ses conseils précieux dans divers domaines, sa disponibilité, sa patience et sa bienveillance.

Je tiens aussi à remercier Monsieur AZZI Rachid, vice doyen chargé de la post-graduation et relations extérieures pour toute l'assistance qu'il m'a fournie, nos enrichîtes discussion et sa grande bienveillance. Tout remerciement ne saurait suffire pour exprimer ma gratitude et mon grand respect pour vous.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon époux BOUZAR KOUADRI Omar, pour sa constante disponibilité, son attention soutenue respectueux de mon travail manifesté par

ses encouragements, et surtout pour la pertinence et l'excellence de ses observations ainsi que son sens de la synthèse qui me serviront toujours de guide.

Je tiens également à adresser ma sincère reconnaissance, mes collègues Mme LAISSAOUI Aicha, FIZIR Meriem qui m'ont constamment transmis leur savoir, leur engagement et leur passion pour mon projet de recherche scientifique tout au long de ce travail, grâce à leur participation active, leurs soutiens et leurs conseils.

Afin de terminer, j'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien, de différentes manières, directement ou indirectement dans mon travail et que je ne peux nommer individuellement en raison de leur nombre.

Dédicaces

À mes précieux parents, premiers soutiens qui m'ont encouragé à poursuivre mes études jusqu'à ce point. Ils m'ont inculqué le goût du travail et l'ambition. Je consacre ce travail à vous, car je suis conscient de la fierté que vous ressentez à mon égard. Je vous suis profondément reconnaissant.

Je ne saurais exprimer à mon époux ma profonde gratitude pour le soutien constant dont il a toujours fait preuve. Tu m'as constamment soutenu et incité à donner le meilleur de moi-même, ton appui m'a permis d'accomplir ce rêve tant espéré. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.

A mes adorables fils Adem, Idris et kossai

A ma belle-sœur Hanane

A ma belle-famille pour leur soutien moral et leur gentillesse.

A mes meilleures amies : Faiza, Hayat, Kheira, Naima, zola, Aicha, Radhia, Ghania, Mayssa et toute l'équipe Clinique Maison Diabétique, surtout, Madame Ben Ali Saida.

Nacera

Résumé

Le présent travail comprend deux axes, le premier porte sur l'évaluation de l'aspect nutritionnel et de la valorisation phytochimique des jus et des extraits hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus L*, et le deuxième s'appuie sur la mise en évidence, en premier lieu, de l'activité antibactérienne et antioxydante (*in vitro*); les propriétés antioxydantes ont été évaluées par l'activité de piégeage des radicaux DPPH, le système β -carotène et la capacité antioxydante de réduction ferrique (FRAP); l'activité antibactérienne a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion par puits de gélose. En deuxième lieu, l'évaluation *in vivo* d'une part, de l'activité antidiabétique chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane et d'autre part, de l'activité antioxydante et antidyslipidémique induite par un régime riche en cholestérol, chez le rat mâle wistar. Les analyses nutritionnelles ont montré que le *C.sinensis*, *C.aurantiaum*, *C.limon*, *C.maxima* et *C.clémentine* sont très riches en glucides et faibles en protéines, lipides et fibres. Les résultats ont montré aussi que les teneurs en polyphénols des jus d'agrumes sont plus élevés à celles des extraits hydro-méthanoliques des feuilles. Les concentrations des composés phénoliques sont significativement élevées ($P < 0,05$) dans le jus et l'extrait hydro-méthanolique des feuilles *C.maxima* (350.05 ± 13.21 et 91.76 ± 3.83 mg Eq AG.g⁻¹), *Citrus aurantium* ($295,37 \pm 4.40$ 106.62 ± 1.87 mg Eq AG.g⁻¹), *Citrus Sinensis* (254.21 ± 2.33 49.49 ± 1.75 mg Eq AG.g⁻¹) et *C.limon* (231.16 ± 4.71 30.51 ± 1.94 mg Eq AG.g⁻¹). L'analyse de ces extraits par HPLC a révélé la présence de l'hespéridine, flavanone (la plus dominante), suivie de la naringine, narirutine, quercétine et l'ériocitrine. La meilleure activité anti-radicalaire a été détectée avec des jus et des extraits de *C.maxima* et *C.aurantium* avec des pourcentages respectivement de 91,66 % et 95,41%. Les variétés de *C. Limon* et *C. aurantium* ont présenté la plus forte activité antibactérienne avec des zones d'inhibition respectives de $27,66 \pm 0,58$ et $24,66 \pm 1,53$ mm, suivie de *C.maxima* et *C.clémentine* avec des zones de $23,00 \pm 1,00$ et $17,66 \pm 0,58$ mm respectivement, Le test de toxicité de la plante n'a fait l'objet d'aucune toxicité observée sauf chez les rats traités par *C.aurantium* à une dose de 1000 mg/kg qui confirme une réduction de l'activité locomotrice, le salivage. Les jus et les extraits hydro-méthanoliques des feuilles de *C.maxima*, *C.aurantium* et *C.limon* ont provoqué une diminution très significative ($P < 0,0001$) de la concentration du cholestérol total, des triglycérides, accompagnée d'une élévation significative des niveaux de HDL cholestérol sériques. Le gavage gastrique des différents flavonoïdes a montré un effet hypoglycémiant significatif. Toutefois, une activité supérieure a été observée en utilisant le jus et l'extrait des feuilles de *C.maxima* $79,27 \pm 3,72$ et $109,46 \pm 5,71$ mg/dl respectivement. En ce qui concerne l'activité antioxydante *in vivo*, une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) du taux du MDA hépatique ($2,18 \pm 0,28$ nmol vs $1,44 \pm 0,05$ nmol) a été constatée chez les rats dyslipidémiques Le traitement par les jus de *C.maxima*, *C.aurantium* et *C.limon* a montré une baisse ($1,10 \pm 0,08$ nmol, $1,10 \pm 0,13$) hautement significative ($p < 0,001$), du taux du MDA hépatique chez les rats dyslipidémiques respectivement. Les résultats de cette étude montrent que les flavonoïdes des feuilles et des jus de *Citrus* ont un effet anibactérien, antioxydant, hypoglycémiant et hypolipémiant.

Mots clés : *Citrus*, feuilles, jus, HPLC, activité antioxydante, antibactérienne, antidiabétique, antidyslipidémique.

abstract

The present work consists of two parts. The first part focuses on the evaluation of the nutritional aspect and phytochemical valorization of juices and extracts from *Citrus L* leaves. The second part aims to demonstrate, firstly, the antibacterial and antioxidant activities (*in vitro*) ; the antioxidant properties were evaluated through DPPH radical scavenging activity, β -carotene system, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) ; the antibacterial activity was assessed using the agar well diffusion method. Secondly, *in vivo* evaluation was conducted to assess the antidiabetic activity in rats induced with alloxan-induced diabetes and the antioxidant and antidyslipidemic activity induced by a high-cholesterol diet in male wistar rats. Nutritional analyses showed that *C.sinensis*, *C.aurantium*, *C.limon*, *C.maxima*, and *C.clementine* are rich in carbohydrates and low in proteins, lipids, and fibers. The results also indicated that the polyphenol content in *Citrus* juices is higher than that in methanolic leaf extracts. The concentrations of phenolic compounds are significantly higher ($p < 0.05$) in the juice and leaf extract of *Citrus maxima*. 350.05 ± 13.21 et 91.76 ± 3.83 mg Eq Ag.g⁻¹), *C.aurantium* (295.37 ± 4.40 106.62 ± 1.87 mg Eq Ag.g⁻¹), *C.sinensis* (254.21 ± 2.33 49.49 ± 1.75 mg Eq Ag.g⁻¹) et *C.limon* (231.16 ± 4.71 30.51 ± 1.94 mg Eq Ag.g⁻¹). HPLC analysis of these extracts revealed the presence of hesperidin, flavanone (the most dominant), followed by naringin, narirutin, quercetin, and eriocitrin. The highest antioxidant activity was detected in the juices and extracts of *C.maxima* and *C.aurantium*, with percentages of 91.66% and 95.41% respectively. *C.limon* and *C.aurantium* varieties showed the strongest antibacterial activity with respective inhibition zones of 27.66 ± 0.58 mm and 24.66 ± 1.53 mm, followed by *C.maxima* and *C.clementine* with zones of 23.00 ± 1.00 mm and 17.66 ± 0.58 mm respectively. The toxicity test of the plant showed no observed toxicity, except in rats treated with *C.aurantium* at a dose of 1000 mg/kg, which showed reduced locomotor activity and salivation. The *Citrus maxima*, *Citrus aurantium*, and *C.limon* juices and hydrométhanolic.

extracts caused a significant decrease ($p < 0.0001$) in total cholesterol and triglyceride concentrations, accompanied by a significant increase in serum HDL cholesterol levels. Gastric administration of different flavonoids showed a significant hypoglycemic effect. However, better activity was obtained with the juice and leaf extract of *C.maxima*. 79.27 ± 3.72 and 109.46 ± 5.71 mg/dl respectively. Regarding the *in vivo* antioxidant activity, a highly significant increase ($p < 0.001$) in hepatic mda levels (2.18 ± 0.28 nmol vs. 1.44 ± 0.05 nmol) was observed in dyslipidemic rats. Treatment with juices from *C.maxima*, *Citrus aurantium*, and *C.limon* showed a highly significant decrease (1.10 ± 0.08 nmol, 1.10 ± 0.13 nmol, $p < 0.001$) in hepatic MDA levels in dyslipidemic rats, respectively. The results of this study demonstrate that the flavonoids from the leaves and juices of *Citrus* have antibacterial, antioxidant, hypoglycemic, and hypolipidemic effects.

Keywords : *Citrus*, leaves, juice, HPLC, antioxidant activity, antibacterial, antidiabetic, antidyslipidemic.

الملخص

تُقدّم هذه الدراسة محتوياتها في محورين رئيسيين: الأول يتناول تقييم الجوانب الغذائية واستغلال المركبات النباتية في العصائر ومستخلصات أوراق الحمضيات من جنس *Citrus L.* أما المحور الثاني، فيركز في البداية على إبراز الأنشطة المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة (في المختبر)، حيث تم تقييم الأنشطة الأكسدة من خلال قدرة الاصطياد للجذور الحرة DPPH ونظام البيتا كاروتين، طريقة الأكسدة (FRAP) وتم تنفيذ الأنشطة المضادة للبكتيريا. في المرحلة الثانية، تم تقييم الأنشطة في الجسم الحي، بدءًا من النشاط المضاد لمرض السكري في الجرذان التي تمت معالجتها بالألوكسان، وانتهاءً بالنشاط المضاد للأكسدة ومضاد لاضطرابات الدهون الناجمة عن نظام غذائي غني بالكوليسترول لدى ذكور الجرذان الويستر.

أظهرت التحاليل الغذائية أن *C.sinensis* و *C.aurantiaum* و *C.limon* و *C.maxima* و *C.clémentine* غنية جدًا بالكربوهيدرات وفقيرة للبروتين والدهون والألياف. كما أظهرت النتائج أن محتوى البوليفينول في عصائر الحمضيات أعلى من تلك الموجودة في المستخلصات الميثانولية للأوراق.

توضح النتائج أن تراكيز المركبات الفينولية مرتفعة بشكل ملحوظ ($P < 0.05$) في عصير ومستخلص أوراق الحمض (*C.maxima*)، تم الكشف عن وجود الهسبريدين، الفلافانون (الأكثر سيطرة)، تليه النارغين، الناربروتين، الكويرسيتين والإيريوسيتين في تحليل النوعي هذه المستخلصات باستخدام HPLC. تم اكتشاف أعلى نشاط مضاد للجذور الحرة مع عصير ومستخلصات *C. aurantium* و *C. maxima* بنسب 91.66% و 95.41% على التوالي.

تمت ملاحظة أعلى نشاط مضاد للبكتيريا في الأصناف *C. Limon* و *C. aurantium* بأقطار تثبيط بحجم 0.58 ± 27.66 و 1.53 ± 24.66 ملم على التوالي، تليها *C. maxima* و *C. clémentine* أقطار مناطق تثبيط 1.00 ± 23.00 و 0.58 ± 17.66 ملم على التوالي. لم يتم ملاحظة أي تسمم في اختبار سمية النبات إلا في الفئران التي تم علاجها بجرعة 1000 ملغ/كغ من *C. aurantium* والتي أظهرت تقليلًا في الحركة وزيادة في اللعب.

أثبتت عصائر ومستخلصات الكحول المائي من أوراق الحمضيات *C. maxima*، والحمضيات *C. aurantium*، والحمضيات *C. Lemon* تقليلًا كبيرًا جدًا ($P < 0.0001$) في تركيز الكوليسترول الكلي والدهون الثلاثية، مع زيادة ملحوظة في مستويات الكوليسترول العالي الكثافة في الدم.

أظهر إعطاء الفلافونويدات المختلفة عن طريق التغذية تأثيرًا في خفض نسبة مستوى السكر في الدم. ومع ذلك، تم الحصول على نشاط أفضل مع عصير ومستخلص أوراق الحمضيات *C. maxima* بمستويات 3.72 ± 79.27 و 5.71 ± 109.46 ملغ/ديسيلتر على التوالي. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة في الجسم، لوحظ زيادة ملحوظة للغاية ($p < 0.001$) في مستوى ثنائي الأكسيد المألوني الكبدي (2.18 ± 0.28 نانومول مقابل 1.44 ± 0.05 نانومول) في الجرذان ذات اضطرابات الدهون في الدم. أظهرت معالجة الجرذان ذات اضطرابات الدهون في الدم بعصائر الحمضيات ماكسيما والحمضيات أورانج والحمضيات ليمون انخفاضًا ملحوظًا (1.10 ± 0.08 نانومول، 1.10 ± 0.13 نانومول على التوالي) في مستوى ثنائي الأكسيد المألوني الكبدي ($p < 0.001$). تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن الفلافونويدات الموجودة في أوراق وعصائر الحمضيات لها تأثير مضاد للبكتيريا ومضاد للأكسدة وخافض لمستوى السكر في الدم وخافض للدهون.

الكلمات المفتاحية: حمضيات، أوراق، عصير، HPLC، نشاط مضاد للأكسدة، مضاد للبكتيريا، مضاد لمرض السكري، مضاد لاضطرابات الدهون في الدم.

Table des matières

Remerciements	I
Dédicaces.....	II
Résumé	III
Table des matières.....	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VI
Liste des Abréviations.....	VII
Introduction.....	1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les pathologies infectieuses et métaboliques.....	6
1. Les maladies infectieuses	6
1.1. Les infections urinaires.....	6
1.2. Les infections pulmonaires	8
1.2.1. Les infections à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
1.3. Les infections digestives.....	8
1.3.1. L'infection à <i>Staphylococcus aureus</i>	9
1.3.2. L'infection à <i>Escherichia coli</i>	9
1.3.3. L'intoxication à <i>Bacillus cereus</i>	10
1.3.4. L'infection à <i>Salmonella typhi</i>	11
2. Les maladies métaboliques :.....	11
2.1. Les maladies cardiovasculaires.....	12

2.1.1 Les facteurs de risque	13
2.1.2. Hypercholestérolémie et athérogenèse	15
2.1.2.1. Formation de la plaque de l'athérosclérose.....	16
2.2.1. Le diabète de type 1	20
2.2.2. Le diabète de type 2	20
3. Les maladies liées au stress oxydant.....	21
3.1. Stress oxydant.....	21
3.2. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires	21
3.3. Stress oxydatif et diabète.....	22
Chapitre II : les Agrumes : composition chimique, propriétés nutritionnelles et composés phénoliques	23
1. Les Agrumes	23
1.1 Données botaniques.....	23
1.2. Production mondiale des agrumes.....	26
1.3. Importance de l'agrumiculture en Algérie	28
1.4. Description morphologique et physiologique :	29
1.4.1 Description des espèces étudiées	30
1.4.1.1 Les oranges	30
1.4.1.2 Les Bigarades.....	31
1.4.1.3 Les mandarines	31
1.4.1.4 Les Citrons.....	32
1.4.1.5 Les Pamplemousses.....	32
1.5. Valeur nutritive des <i>Citrus</i>	35

2. Les antioxydants.....	37
2.1. Antioxydants enzymatiques	38
2.2. Antioxydants non enzymatiques	38
2.2.1. La vitamine C	39
2.2.2. Vitamine E	40
2.2.3. Caroténoïdes	40
2.2.4. Les composés phénoliques	41
2.2.5. Les acides phénoliques.....	42
2.2.6. Les flavonoïdes	42
3. Intérêt des biomolécules	45
3.1. Activité anti-oxydante.....	45
3.2. Effet antimicrobien	47
3.3. Effets Hypolipidémique	47
3.4. Autres activités biologiques.....	48

PARTIE EXPERIMENTALE

III. MATERIEL ET METHODES.....	49
1. MATERIEL.....	49
1.1. Matériel biologique	49
1.1.1. Matériel végétal.....	49
1.1.2. Bactéries pathogènes.....	51
1.1.3. Les animaux.....	53
2. METHODES.....	53
2.1. Préparation des extraits méthanoliques.....	53

2.1.1. Calcul du rendement.....	54
2.1.2. Analyse physico-chimique et nutritionnelle du jus d'agrumes	54
2.1.2.1. Mesure des solides totaux, du pH et de l'acidité	54
2.1.2.2. Analyse nutritionnelle du jus d'agrumes	55
2.1.2.2.1. Les macroéléments.....	55
2.1.2.2.2. Les microéléments.....	56
2.2. Etude phytochimique des extraits	58
2.2.1. Analyses quantitatives	58
2.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux.....	58
2.2.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	59
2.2.1.3. Identification quantitative des flavonoïdes par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).....	60
2.3. Estimation des activités biologiques des extraits méthanoliques et jus des <i>citrus</i> : ..	61
2.3.1. Evaluation <i>in vitro</i> des activités biologiques	61
2.3.1.1. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	61
2.3.1.1.1. Test du DPPH	62
2.3.1.1.2. Méthode de blanchissement de la β -carotène	64
2.3.1.1.3. Méthode de FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	65
2.3.1.2. Etude de l'activité antibactérienne	66
2.3.1.2.1. Repiquage et revivification des bactéries pathogènes.....	66
2.3.1.2.2. Préparation des suspensions des bactéries pathogènes	66
2.3.1.2.3. Effet antibactérien des extraits hydro-alcooliques et des jus.....	67
2.3.1.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	67

2.3.1.2.5. Test de sensibilité aux antibiotiques : Antibiogramme.....	68
2.3.2. Activités biologiques (<i>in vivo</i>).....	68
2.3.2.1. Etude de la toxicité aiguë.....	68
2.3.2.2. Etude de l'activité hypocholestérolémiant des extrais hydro-alcooliques et jus des différentes variétés des <i>Citrus</i>	70
2.3.2.3. Etude du potentiel antidiabétique des extrais hydro-alcooliques et jus des différentes variétés des <i>Citrus</i>	71
2.3.2.4. Analyse des paramètres biochimiques	73
2.3.2.4.1. Prélèvement du sang	73
2.3.2.4.2. Etude histologique.....	73
2.3.2.5. Etude <i>in vivo</i> de l'activité antioxydante.....	75
2.3.2.5.1. Préparation de l'homogénat après la pesée de l'échantillon.....	75
2.3.2.5.2. Evaluation de certains paramètres du statu redox	77
2.3.2.5.3. Détermination des défenses antioxydantes enzymatiques.....	79
3. Analyse statistique.....	79

PARTIE EXPERIMENTALE

II. Résultats et discussion	80
1. Taux d'extraction	80
2. Analyse physico-chimique et nutritionnelle du jus d'agrumes	81
2.1. Analyse physico-chimique	81
2.1.1. Rendement, pH, acidité titrable (TA) et teneur totale en solides solubles (TSS) ...	81
2.2. Analyses nutritionnelles du jus d'agrumes	84
3. Etude phytochimique des extraits hydro-méthanoliques et des jus des <i>Citrus</i>	89
3.1. Analyses quantitatives	89

3.1.1. Polyphénols totaux	89
3.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	93
3.2. Analyse des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	97
4. Activités biologiques des extraits méthanoliques et des jus des agrumes	100
4.1. Activités biologiques (<i>in vitro</i>).....	100
4.1.1. Activité antioxydante	100
4.1.1.1. Test de DPPH	100
4.1.1.2. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	106
4.1.1.3. Test du blanchissement du β -carotène	110
4.1.1.4. Corrélacion entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante	113
4.1.2. Activité antibactérienne des extraits	114
4.2. Activités biologiques (<i>in vivo</i>).....	120
4.2.1. Etude de toxicité	120
4.2.2. Activité hypocholestérolémianle	121
4.2.2.1. Analyses des paramètres lipidiques.....	121
4.2.2.2. Analyse des coupes histologiques.....	125
4.2.3. Evolution de la glycémie et test de tolérance au glucose chez les groupes diabétiques	131
4.2.3.1. Variation de la glycémie au cours du traitement	131
4.2.3.2. Test de tolérance au glucose.....	131
4.2.3.3. Etude descriptive histologique	133
4.2.4. Etude des paramètres du stress oxydant.....	138

4.2.4.1. Evaluation de la peroxydation des lipides par la mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	138
4.2.4.2. Effet des jus et l'extraits des feuilles sur l'activité des enzymes antioxydantes et sur le statut antioxydant total (TAS)	141
CONCLUSION GENERALE	147
Références	152
ANNEXES.....	184
PRODUCTION SCIENTIFIQUE	203

Liste des figures

Figure 1: Étapes de la formation de la plaque d'athérome. (Nabel et Braunwald, 2012).....	17
Figure 2 : Position Taxonomique des agrumes, d'après Swingle et Reece (1967).	24
Figure 3 : Répartition des agrumes en Algérie (ITAFV, 2012).	28
Figure 4: Schéma précisant la structure du péricarpe de l'orange (Huet, 1991).....	30
Figure 5 : Photographies des fruits, fleurs et arbres de quelques espèces du <i>Citrus</i>	34
Figure 6 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.....	38
Figure 7 : Différentes classes des composés phénoliques (Macheix et al., 2005).	42
Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (Tsao, 2010).	43
Figure 9 : Structure chimique de quelques flavonones et flavones du <i>Citrus</i> (Del Rio et al., 2004).....	44
Figure 10 : Représentation schématique du potentiel antioxydant et du mécanisme d'action des <i>Citrus</i> (Zou et al., 2016).....	46
Figure 11 : Carte géographique de la région de Blida indiquant la zone de récolte.	50
Figure 12 : Réduction du radical libre DPPH en DPPHH (Molyneux, 2004).	63
Figure 13 : Réduction du fer ferrique en fer ferreux par un antioxydant (AH).	65
Figure 14 : Protocole expérimental <i>in vivo</i> de l'activité hypocholestérolémiant.....	70
Figure 15 : Protocole expérimental <i>in vivo</i> de l'activité antidiabétique.....	72
Figure 16 : Principe de dosage du malondialdéhyde (Lefèvre et al., 1998).....	76
Figure 17. Taux d'extraction par macération des feuilles des espèces de <i>Citrus</i>	80
Figure 18 : Le pourcentage de l'activité antioxydante des extraits des feuilles et de jus de <i>Citrus</i>	101
Figure 19 : Pourcentage de l'activité antioxydante DPPH par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de jus des différents cultivars étudiés.....	105

Figure 20 : Pourcentage de l'activité antioxydante DPPH par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de feuilles des différents cultivars étudiés.....	105
Figure 21 : Pouvoir réducteur des extraits méthanolique des feuilles et de jus de <i>Citrus</i>	107
Figure 22 : Pourcentage de l'activité antioxydante FRAP par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de jus des différents cultivars étudiés.....	109
Figure 23 : Pourcentage de l'activité antioxydante FRAP par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de feuilles des différents cultivars étudiés.....	109
Figure 24 : Le pourcentage d'activité antioxydante des extraits des feuilles et de jus de <i>Citrus</i>	111
Figure 25 : Pourcentage de l'activité antioxydante β -carotène par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de jus des différents cultivars étudiés.....	112
Figure 26 : Pourcentage de l'activité antioxydante β -carotène par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de feuilles des différents cultivars étudiés.....	112
Figure 27 : Relation entre les différentes activités antioxydantes.....	113
Figure 28 : Etude histologique du parenchyme hépatique des rats colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (X 400).....	126
Figure 29 : Observation microscopique des coupes histologiques du pancréas colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (X 400)	135
Figure 30 : Influence de l'effet des jus et des extraits des feuilles des agrumes sur la concentration hépatique du MDA.....	140
Figure 31: Effet des jus et des extraits de feuilles des agrumes sur l'activité des enzymesantioxydant.....	142

Figure 32 : Effet des jus et des extraits de feuilles des agrumes sur le statut antioxydant total (TAS).....	143
Figure 33 : Le taux de Rendement du jus fraîchement extrait des agrumes.....	Annexe1
Figure 34 : Le pH, acidité titrable et Total des solides solubles du jus fraîchement extrait des agrumes.....	Annexe1
Figure 35 : Composition chimique globale des jus de différentes variétés d'agrumes.....	Annexe1
Figure 36 : Composition en minéraux des jus d'agrumes, Ca, Na, P, Mg et Fer	Annexe1
Figure 37 : Composition en vitamines des jus d'agrumes : β -carotène, vitamine C, B2, B1	Annexe1
Figure 38 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.....	Annexe1
Figure 39 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	Annexe1
Figure 40 : Courbe d'étalonnage de la quercétine à 420 nm.....	Annexe1
Figure 41 : Profil chromatographique de jus des <i>Citrus maxima</i>	Annexe1
Figure 42 : Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Citrus maxima</i>	Annexe1
Figure 43 : Profil chromatographique de jus de <i>Citrus aurantium</i>	Annexe1
Figure 44 : Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Citrus aurantium</i>	Annexe1
Figure 45 : Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Citrus limon</i>	Annexe1
Figure 46 : Profil chromatographique de jus de <i>Citrus limon</i>	Annexe1

Figure 47 : Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Citrus sinensis sanguinelli</i>	AnnexeI
Figure 48 : Profil chromatographique de jus de <i>Citrus sinensis sanguinelli</i>	AnnexeI
Figure 49 : Profil chromatographique de jus de <i>Citrus clementine</i>	AnnexeI
Figure 50 : Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de <i>Citrus clementine</i>	AnnexeI
Figure 51 : Effets des extraits méthanoliques et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 533.....	AnnexeI
Figure 52 : Effets des extraits méthanoliques et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	AnnexeI
Figure 53 : Effets des extraits méthanoliques et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	AnnexeI
Figure 54 : Effets des extraits méthanoliques et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	AnnexeI
Figure 55 : Effets des méthanolique et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	AnnexeI
Figure 56 : Effets des extraits methanolique et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9378	AnnexeI
Figure 57 : Effets des extraits méthanoliques et des jus de <i>Citrus</i> sur <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 494.....	AnnexeI
Figure 58 : L'administration orale des extraits et des jus de <i>Citrus</i>	AnnexeII
Figure 59 : Prélèvement du sang et sacrifice des rats.....	AnnexeII
Figure 60 : Courbe d'étalonnage du MDA avec le réactif TBA.....	AnnexeII
Figure 61 : Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif DTNB	AnnexeII

Liste des tableaux

Tableau 01. Bactéries responsables de l'infection urinaire.....	07
Tableau 02. Les différents facteurs de risque cardio-vasculaire identifiés.....	14
Tableau 03. Production totale d'agrumes (mille tonnes).....	27
Tableau 04. Description et pouvoir pathogène des souches testées.....	52
Tableau 05. Rendement, pH, acidité titrable et total des solides solubles du jus fraîchement extrait des agrumes.....	83
Tableau 06. Composition chimique globale des jus de différentes variétés d'agrumes.....	85
Tableau 07. Composition en vitamines des jus d'agrumes.....	86
Tableau 08. Composition en minéraux des jus d'agrumes.....	88
Tableau 09. Teneur en phénols des jus et des feuilles de certaines variétés d'agrumes.....	96
Tableau 10. Les valeurs d'IC ₅₀ (mg.ml ⁻¹) des différents extraits et jus testés.....	102
Tableau 11. Activité antimicrobienne des extraits d'agrumes contre les isolats Gram positif mesurée en(mm).....	116
Tableau 12. Activité antimicrobienne des extraits d'agrumes contre les isolats Gram négatif mesurée en (mm).....	117
Tableau 13. Résultats de concentration minimales inhibitrices des extraits hydro-méthanolique des Citrus vis avis des bactéries pathogènes.....	AnnexeI
Tableau 14. Comportement, signes de toxicité et taux de mortalité chez les rats traités avec des doses croissantes de l'extrait des feuillettes et des jus des citrus.....	120
Tableau 15. Résultats du dosage des différents paramètres lipidiques (TC, TG, LDL, VLDL et HDL) des lots.....	124
Tableau 16. Variation de la tolérance au glucose en fonction du temps après le traitement des rats avec les différents types d'extraits et des jus de Citrus.....	132
Tableau 17. Variation de la glycémie durant 28 jours de traitement chez les rats diabétiques traités par les jus et l'extraits des feuilles..... ;;	Annexe II

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation

AVC : Accident vasculaire cérébral.

CAT : Catalase

DPPH : 1,1-diphényl- 2-pyrcil-hydrazyl.

EOA : Espèces oxygénées activées

EQ/gE : Equivalent de la quercétine par gramme d'extrait

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FeCl₃ : Chlorure de fer.

F A O : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

GPx :Glutathion peroxydases

GSH : Glutathion réduit

GSH-Px : Glutathion Peroxydase

GSSH : Glutathion Oxydé

GSSH-Red : Glutathion Réductase

HDL : Lipoprotéines de Haute Densité

HCL : Acide chlorhydrique concentré

HDF : HIgh diet fat

HMG-CoA : réductase : Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-Coenzyme A réductase

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IC 50 : Concentration Inhibitrice de 50%

LDL : Lipoprotéine de basse densité.

MCV : Maladie cardiovasculaire.

MDA : Malondialdéhyde

MIC : Concentration Minimale Inhibitrice

Mg : Milligramme

mg Eq AA/g : Milligrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme.

mg Eq AG/g : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme.

mg Eq Q/g : Milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme.

ml: Millilitre

NOS : Oxyde nitrique synthase.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ROS/RNS: Reactive oxygen species/ reactive nitrogen species.

SOD : Superoxydes Dismutase

TBARS : Substances Réactives à l'Acide Thiobarbiturique Triglycérides

SHU : Syndrome hémolytique et urémique.

TC: Total cholestérol.

TG Triglycérides.

TNF *Tumor necrosis factor*

VLDL Lipoprotéine de très basse densité

INTRODUCTION GENERALE

I. Introduction

L'état de santé d'une vaste portion de la population suscite actuellement des inquiétudes en raison de la fréquence élevée de la dyslipidémie et des maladies chroniques (Rekhy et Conchie, 2014). L'adoption d'une diète équilibrée et nutritive est un moyen efficace pour prévenir l'émergence des maladies chroniques, l'obésité et leurs complications mortelles (Vaillancourt, 2018).

Par ailleurs, les maladies non transmissibles, principalement les maladies cardiovasculaires (MCV) et le diabète, représentent un enjeu crucial de la santé publique à l'échelle mondiale. Ces deux maladies sont fortement liées à la nutrition aussi bien sur le plan préventif que sur celui de la prise en charge (Ferdin et *al.*, 2016).

D'une part, les maladies cardiovasculaires (MCV) telles que l'athérosclérose et ses complications sont identifiées comme le principal facteur de mortalité liée aux maladies chroniques par l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2016). En 2012, plus de 17 millions de décès ont été constatés. En Algérie, l'ampleur est remarquée au niveau des décès par MCV qui représente 26,1% des décès annuels.

Par ailleurs, le diabète est une maladie métabolique chronique caractérisée par une hyperglycémie due à une sécrétion insuffisante et/ou à un dysfonctionnement de l'insuline. (Tenenbaum et *al.*, 2018). Cette pathologie augmente le risque de nombreuses comorbidités et mortalités y compris les MCV (Kandouli et *al.*, 2017) ; cette relation est encore plus forte, associant une hyperlipidémie, un facteur de risque de l'athérosclérose dont l'hypercholestérolémie en est le facteur majeur.

En effet, un grand nombre de patients hypercholestérolémiques est enregistré, du fait du changement du mode nutritionnel. L'hypercholestérolémie est responsable de 2,6 millions de décès (OMS, 2010). En Algérie, une enquête menée en 2008, a mis en évidence une prévalence d'une dyslipidémie de 15,9%, due essentiellement à l'hypercholestérolémie (Berrouiguet et *al.*, 2009).

De plus, la fédération internationale du diabète (FID) estime que, il y a plus de 425 millions de diabétiques dans le monde et cette quantité pourrait se multiplier par deux d'ici à 2045 (Ogurtsova et *al.*, 2017). L'Algérie ne fait pas exception à cette épidémie de diabète, pratiquement liée aux mêmes modifications des conditions de vie observées à l'échelle mondiale. Effectivement, le FID a comptabilisé 1 632 000 personnes atteintes de diabète en Algérie.

Le diabète et l'hypercholestérolémie sont fréquemment reliés à des anomalies du métabolisme lipidique, illustrés par une hypertriglycéridémie résultant d'une stimulation de la biosynthèse et de la sécrétion des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) riches en triglycérides (TG) et qui s'accompagnent d'une diminution du taux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL) (Erdmann et *al.*, 2008).

Il est communément admis que le stress oxydant est impliqué dans la plupart des maladies métaboliques dégénératives comme le diabète et l'hypercholestérolémie (Asmat et *al.*, 2016). Le stress oxydant, dans le cas du diabète et de l'hypercholestérolémie, entraîne un déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des carbohydrates et des lipides, de l'augmentation de la production des espèces réactives à l'oxygène (ROS) par glycation, de la peroxydation lipidique et de la réduction du système de défense antioxydant (Ellulu et *al.*, 2016).

Ce stress oxydant est souvent associé à une élévation des marqueurs de l'inflammation qui jouent un rôle crucial dans le développement des complications vasculaires (Wang et *al.*, 2017).

Plusieurs médicaments antidiabétiques et hypolipémiants semblent avoir des propriétés antioxydantes *in vivo* et *in vitro* et par conséquent, pourraient aider à prévenir l'athérosclérose (Vaillancourt, 2018).

Néanmoins, certains médicaments, utilisés actuellement et qui sont administrés par voie orale dans le traitement de l'hypercholestérolémie et du diabète, possèdent des effets secondaires. Ainsi, il serait nécessaire d'avoir de nouveaux agents thérapeutiques, plutôt non toxiques dans le traitement de l'hyperglycémie et la correction de la dyslipidémie et par conséquent, la réduction du risque des complications cardiovasculaires dues au diabète et à l'hypercholestérolémie.

Régulièrement, au fil des siècles et au sein de diverses cultures, les chercheurs choisissent d'élaborer une nouvelle génération de composés thérapeutiques d'origine végétale pour substituer ceux d'origine synthétique.

Par ailleurs, plusieurs domaines industriels se dirigent à nouveau vers l'incorporation de ces molécules présentant des propriétés biologiques remarquables dans leurs compositions. Dans ce contexte, Des recherches scientifiques portent sur la phytochimie et les effets des extraits de plantes pour mieux valoriser les produits naturels (Atik et *al.*, 2008; Haddouchi et *al.*, 2013; Chaouache, 2014).

L'Algérie possède une variété floristique diversifiée. Les agrumes font partie des plantes médicinales et thérapeutiques. Le genre *Citrus* de la famille des *Rutacées* comprend plusieurs fruits importants tels que les citrons, les mandarines, les oranges, l'orange amère et les pamplemousses (Goetz, 2014).

Selon les statistiques, environ 124 246,0 milliers de tonnes de produits à base d'agrumes ont été produites dans le monde en 2015/2016 (73 % de la production est consommée fraîche, 26 % destinée à la transformation et 9 % à l'exportation). L'Algérie est le 16^{ème} producteur mondial et le 3^{ème} de l'Union du Maghreb arabe (FAO 2017).

Ces dernières années, les agrumes et les jus de fruits ont fait l'objet d'un grand intérêt. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont montré que la santé humaine est favorisée par la consommation des agrumes qui ont été proposés comme antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et antiprolifératifs (Zhang et *al.*, 2016 ; Ferreira et *al.*, 2018).

De plus, les antioxydants sont devenus importants en raison de leur implication positive en tant que promoteurs de la santé contre les maladies chroniques, comme les maladies cardiovasculaires, le diabète et le cancer (Zou et *al.*, 2016). Les agrumes sont des sources riches en substances phytochimiques utiles, telles que les vitamines A, C et E, les éléments minéraux, les flavonoïdes, les coumarines, les limonoïdes, les caroténoïdes, les pectines et d'autres composés (Zhou, 2012 ; Zhang et *al.*, 2016).

Plusieurs recherches ont porté sur l'activité antioxydante des agrumes, y compris les citrons, les limes et les oranges, une activité due à la vitamine C et aux substances phénoliques qu'ils contiennent (Tsai et Chang, 2007 ; Yoo et Moon, 2015).

Toutefois, les effets thérapeutiques des feuilles d'agrumes n'ont pas encore été détectés bien que les feuilles d'agrumes soient une source importante de composés bioactifs, notamment d'antioxydants tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques qui ont pris une grande ampleur.

Ce travail fait partie d'un programme visant à mettre en valeur la flore algérienne grâce à la découverte de nouveaux composés ou principes actifs.

Cette thèse est divisée en sections principales (bibliographique et expérimentale) ; la partie bibliographique offre un aperçu des agrumes, de leur composition, de leur culture et du bienfait thérapeutique des biomolécules présentes dans ces fruits.

Dans la partie expérimentale, afin de réaliser l'objectif de cette thématique, nous avons choisi dix espèces de citrus de la région de Mitidja à savoir :

❖ **Orange douce** (*Citrus sinensis* L.)

- ✓ Navel : *C. sinensis* L. variétés : Thomson, Washington.
- ✓ Blood : *C. sinensis* L. variétés : Sanguinelli, Double Fine et Portugaise.
- ✓ Blond : *C. sinensis* L. variété : Jaffa

❖ **Orange amer** (*Citrus aurantium* L.)

- ✓ variété : Bigarade.

- ❖ *Citrus limon*
- ❖ *Citrus clémentine*
- ❖ *Citrus maxima*

✓ variété : pamplemousse.

LES OBJECTIFS :

- ✓ Analyse physico-chimique et nutritionnelle du jus d'agrumes.
- ✓ Etude phytochimique de chaque variété, basée principalement sur la préparation des extraits méthanoliques.
- ✓ Evaluation quantitative des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les jus et divers extraits méthanoliques.
- ✓ Identification de la composition chimique des extraits méthanoliques et des jus par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).
- ✓ Etude *in vitro* de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et des jus en utilisant trois méthodes différentes.
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des bactéries pathogènes.
- ✓ Évaluation *in vivo* des propriétés biologiques : étude de l'effet antidiabétique et de l'influence de ces extraits sur le profil lipidique des rats sous un régime hypercholestérolémique.
- ✓ Etude *in vivo* de l'effet de l'extrait méthanolique brut des feuilles de *Citrus* et des jus sur l'amélioration du potentiel globale de défense antioxydante chez les rats.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les pathologies infectieuses et métaboliques

1. Les maladies infectieuses

De nombreuses maladies humaines provoquées par des agents infectieux microscopiques qui se prolifèrent dans les tissus des organes. Ces agents pathogènes, qu'ils soient de nature bactérienne, virale ou mycosique, sont à l'origine de diverses maladies infectieuses comme les infections urinaires, pulmonaires et digestives.

1.1. Les infections urinaires

L'infection urinaire se définit par la détection de micro-organismes anormaux dans l'urine. Elle englobe aussi bien, la colonisation ou bactériurie asymptomatique et l'infection du tractus urinaire symptomatique (Vorkaufer, 2011).

Elle peut affecter plusieurs parties des voies urinaires : les reins, les uretères, la vessie ou l'urètre. Elle s'exprime cliniquement par des douleurs, troubles de miction et des sensations de brûlure, parfois accompagnées de douleurs abdominales et de la fièvre (Banacorsi, 2007). Deux grandes voies de pénétration de ces germes sont distinguées : voie ascendante et voie hématogène.

- **La voie ascendante :**

Selon Lobel (2007), les germes pénètrent généralement par une voie ascendante, canalaire. Bien que l'urètre soit habité par une diversité de micro-organismes, il représente le premier rempart contre la surinfection bactérienne de la vessie. En présence des facteurs favorables, il y a une remontée des germes saprophytes dans la vessie et ensuite les voies urinaires supérieures chez les sujets immunodéprimés (Caron, 2003).

- **La voie hématogène**

En cas de septicémie ou de bactériémie, les microbes circulant dans le sang colonisent le rein lors du processus de filtration glomérulaire. Les agents pathogènes de la voie hématogène sont généralement spécifiques, tel que *Staphylocoque aureus*, *Candida*, *Mycobacterium tuberculosis* (Bruyere et al., 2008).

Les germes responsables de l'infection urinaire sont : *Escherichia coli* (75-85%) et certaines entérobactéries (*Klebsiella spp.* et *Proteus spp.*) enregistrées dans 4% à 25% de cas d'infection urinaire. Le *Staphylocoque saprophyticus* est retrouvé dans moins de 4% de ces cas, (Barber et al, 2013). L'origine de l'infection urinaire diffère en fonction des facteurs de risque et du type d'infection (tableau 1).

Tableau 1 : Bactéries responsables de l'infection urinaire (Sobel et Kaye, 2000).

Infection urinaire simple	Infection urinaire compliquée
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Klebsiella spp.</i>
<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>
	<i>Streptocoques du groupe B</i>

1.2. Les infections pulmonaires

Ce sont des infections respiratoires constituant un problème majeur dans la santé publique, elles sont classées parmi les infections les plus fréquentes (Amazian et *al*, 2010).

1.2.1. Les infections à *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un agent pathogène responsable d'infections potentiellement mortelles chez les sujets immunodéprimés, d'infections chroniques chez les personnes atteintes de mucoviscidose, et d'infections nosocomiales sévères (Ben Haj Khalifa, 2011).

Le rôle du *Pseudomonas aeruginosa* dans la maladie broncho-pulmonaire chronique obstructive (BPCO) reste une notion mal définie. Toutefois, ce micro-organisme a de nombreux attributs virulents et est la cause de diverses manifestations cliniques chez les individus atteints de BPCO.

Sa fonction est clairement établie lors d'une aggravation de la BPCO, mais elle devient plus indéfinie en dehors de ces épisodes. Sa prévalence dépend de la gravité de la BPCO, cependant, Ce pathogène est responsable de l'inflammation des voies aériennes et de l'évolution de la maladie (Bertrand et Frizzell, 2003 ; Oberhänsli et Laurent, 2010).

1.3. Les infections digestives

Les maladies du tube digestif sont nombreuses et peuvent avoir différentes origines. Des changements dans la composition du microbiote intestinal pourraient être associés à diverses affections telles que les diarrhées, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et certains types de cancer (Goulet, 2009). Des maladies telles que les ulcères, la cholécystite et les sigmoïdites peuvent être provoquées par des bactéries nuisibles. Les infections bactériennes du système digestif ont pour cause divers types de bactéries :

1.3.1. L'infection à *Staphylococcus aureus*

Les Staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococacceae, sphériques, aéroanaérobies facultatifs à gram positif, immobiles et catalase positive. *Staphylococcus aureus* est considérée comme la principale espèce enterotoxinogène des Staphylocoques (Bourgeois et *al*, 1996).

Les toxi-infections alimentaires causées par *Staphylococcus aureus* sont généralement identifiables par leur installation rapide et la sévérité de leurs symptômes. L'incubation se fait sur une courte période, allant de 2 à 4 heures. Lors de ces infections, les *Staphylococcus aureus*, absorbées par l'alimentation, traversent l'intestin grêle et le côlon et si elles résistent à la barrière de la flore intestinale commensale, elles pénètrent dans les entérocytes et engendrent divers effets pathologiques.

La production de toxine entérotoxique provoque une stimulation de la sécrétion de cytotoxine protéique, entraînant une destruction cellulaire, une invasion ou une ulcération de la muqueuse intestinale accompagnée d'une inflammation. Celle-ci peut conduire à la translocation et à la colonisation des phagocytes de la muqueuse ou à leur diffusion par voie sanguine sur de longues distances. Les symptômes habituels comprennent : la diarrhée, des douleurs au niveau de l'intestin et la fièvre (Buyser et Sutra, 2005).

1.3.2. L'infection à *Escherichia coli*

Escherichia coli appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. Des bacilles anaérobies facultatifs, Gram négatifs, non sporulés et oxydase négative. Le genre *Escherichia* comprend 5 espèces : *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii*, *E. vulneris* et *E. blattae*. L'espèce *E. coli* est considérée comme un hôte commensal de la flore intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud.

Les souches d'*E. coli* peuvent changer de comportement causant diverses infections telles les infections intestinales (Nataro et Kaper 1998) ou extra-intestinales (Kaper *al.*, 2004).

Les pathogènes intestinaux de *E.coli* sont classés dans les groupes phylogénétiques A/B1/E et sont responsables du syndrome diarrhéique d'origine hydrique ou alimentaire (Clermont et *al.*, 2011).

Six pathovars principaux sont classés en fonction des signes cliniques et des facteurs de pathogénicité, selon Croxen et Finlay (2010) : les EHEC (*E. coli* Entérohémorragiques), les ETEC (*E. coli* Entérotoxinogènes), les DAEC (*E. coli* à adhérence diffuse), les EPEC (*E. coli* entéropathogènes), les EIEC (*E. coli* entéroinvasives) et les EAEC (*E. coli* entéroagréatives).

1.3.3. L'intoxication à *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, un germe ubiquitaire se trouve non seulement dans l'environnement naturel, mais également dans la flore intestinale de diverses espèces animales. Il s'agit d'un bacille à Gram positif, sans capsule, sporulant et facultativement aéro-anaérobie.

Bacillus cereus est responsable des intoxications à symptômes émétiques et des toxoinfections à symptômes diarrhéiques (Dromigny, 2008).

Le syndrome émétique, qui se manifeste généralement peu de temps après la consommation (entre 1 et 5 heures) des aliments contaminés, est causé par l'ingestion d'une toxine préformée appelée céréulide présente dans ces derniers.

Le syndrome diarrhéique se manifeste par une période d'incubation de 8 à 16 heures, accompagnée de crampes abdominales et de diarrhée, attribuée à la sécrétion d'entérotoxine par des cellules végétales dans l'intestin grêle de l'hôte. Ce syndrome se manifeste après la consommation d'aliments infectés par des cellules végétales ou des spores bactériennes (Clavel et *al.*, 2004 ; Ceuppens et *al.*, 2012).

1.3.4. L'infection à *Salmonella typhi*

Les bactéries qui appartiennent au genre *Salmonella* font partie de la famille *Enterobacteriaceae*. Bacilles anaérobies facultatifs, gram-négatifs, généralement mobiles, catalase positifs et négatifs à l'oxydase (Kabir, 2010). Est une bactérie ubiquitaire, hautement pathogène qui peut entraîner des entérites, des gastro-entérites et des septicémies. Elle a aussi la capacité d'infecter de nombreuses espèces animales outre les humains.

L'infection se produit par ingestion des aliments contaminés crus ou mal cuits. Chez l'individu, la salmonellose apparaît après une période d'incubation varie de 12 à 48 heures et se caractérise par des infections intestinales et des toxi-infections : maux de tête, diarrhées hémorragiques, douleurs abdominales, entérocolite aiguë, gastro-entérite, fièvre et vomissements qui peuvent survenir au début de la maladie (Sahnoune, 2014).

L'agent pathogène pénètre par voie digestive et nécessite une charge microbienne significative pour déclencher la maladie chez l'adulte sain. Entre autres, la majorité des germes ingérés seraient détruits par l'acidité gastrique.

2. Les maladies métaboliques :

Le syndrome métabolique regroupe divers désordres métaboliques, y compris l'hypertension artérielle, la résistance à l'insuline, l'obésité ainsi que des hypercholestérolémies, des hyperglycémies et des taux élevés de triglycérides. Ces anomalies métaboliques constituent de véritables facteurs de risque pour les affections cardiovasculaires et le diabète de type 2.

2.1. Les maladies cardiovasculaires

Selon l'OMS (2017), Les maladies cardiovasculaires sont la principale cause de mortalité à l'échelle mondiale. En 2015, elles étaient à l'origine de 17,7 millions de morts, représentant presque un tiers des décès globaux. Plus de trois quarts des mortalités liés aux maladies cardiovasculaires (MCV) et 82% des décès survenant avant l'âge de 70 ans, se produisent dans des pays à faibles et intermédiaires revenus.

En Algérie, les mortalités par MCV représentent le premier rang avec 26,1% de décès annuels (Berrouiguet et *al.*, 2009). Selon les prévisions de l'OMS, ces affections, affectant aussi bien les hommes que les femmes en proportions similaires, devraient continuer à figurer parmi les principaux motifs de mortalité mondiale dans les années à venir, avec un nombre potentiel de 23,3 millions de décès d'ici 2030.

D'après Oguntibeju et *al.*, (2009), les maladies cardiovasculaires (MCV) sont définies comme tous les problèmes affectant le cœur et le système vasculaire. Ces maladies englobent toutes les pathologies cardiaques, vasculaires (cérébrales et périphériques) et hypertensives.

Les pathologies majeures comprennent les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les cardiopathies ischémiques, les cardiopathies rhumatismales, et l'insuffisance cardiaque, les malformations cardiaques congénitales, l'hypertension artérielle et les artériopathies périphériques,

Selon Yang et *al.*, (2015), l'athérosclérose, une maladie chronique multifactorielle initiée par la rétention des lipoprotéines oxydées dans la paroi artérielle. De plus, elles sont accompagnées d'anomalies lipidiques (Baudet et *al.*, 2012), d'une initiation à une réaction inflammatoire qui va s'accroître (Liberale et *al.*, 2017), d'un stress oxydant et d'un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire (Hermida et Belligand, 2014).

2.1.1 Les facteurs de risque

Divers facteurs peuvent avoir un impact sur le développement de maladies cardiovasculaires. L'accroissement des maladies cardiovasculaires peut être attribué à l'augmentation de l'espérance de vie et à l'apparition de comportements risqués associés aux habitudes de vie. Les facteurs de risque majeurs pour les maladies cardiovasculaires comprennent l'hypertension, le diabète, la dyslipidémie, le tabagisme, une sous-alimentation, un mode de vie sédentaire et l'obésité. (Tableau 2).

Tableau 2. Les différents facteurs de risque cardio-vasculaire identifiés d'après **Grundy et al. (1999)**.

Causalité	Facteur de risque	Impact du facteur de risque
Facteurs de risque majeur	Tabagisme	Effet multiplicateur du Facteur de risque cardiovasculaire risque majeurs : indépendamment des autres
	Hypertension artérielle	
	Élévation du cholestérol total	
	Élévation du LDL-C	
	Diminution du HDL-C	
	Diabète type 2	
	Age	
Facteurs de risque prédisposant	Obésité androïde	Effet amplificateur lorsqu'ils sont combinés aux facteurs de risque majeurs
	sédentarité	
	Antécédents familiaux de maladie coronarienne	
	origine géographique	
	ménopause	
Facteurs de risques discutés	Élévation des triglycérides	Associé à un risque augmenté de maladie cardiovasculaire (coronarienne et/ou vasculaire cérébrale) mais le degré d'imputabilité est méconnu.
	Lipoprotéines LDL petites et denses	
	Élévation de l'homocystéine	
	Élévation de la lipoprotéine A	
	Facteurs prothrombotiques (fibrinogène, inhibiteur de l'activateur du plasminogène)	

2.1.2. Hypercholestérolémie et athérogènes

L'hypercholestérolémie est l'un des principaux facteurs du risque athérogène, directement lié au taux plasmatique de C-LDL et inversement corrélé au taux de C-HDL (Hao et Friedman, 2014 ; Montonen et *al.*, 2013).

Les anomalies métaboliques des lipides et des lipoprotéines entraînent des déséquilibres biologiques avec des répercussions importantes sur la santé publique. En effet, elles sont largement à l'origine du développement de l'athérosclérose et des maladies cardiovasculaires (Bostick et *al.*, 2000).

Les dyslipidémies constituent facteur de risque pour le système cardiovasculaire, tout comme l'hypertension artérielle (HTA), la sédentarité, le diabète et le tabagisme. En favorisant l'athérosclérose (Tosenberger, 2014). Les dyslipidémies provoquent une augmentation du risque d'infarctus du myocarde (IDM) et des accidents vasculaires cérébraux (AVC). Il est donc essentiel de s'occuper d'eux (Beauvais, 2014).

Plusieurs facteurs tels que l'obésité, le déséquilibre nutritionnel, la sédentarité et les troubles du métabolisme des glucides (comme le diabète) sont à l'origine de cette maladie (Bouazza et *al.*, 2015).

L'athérosclérose se caractérise par l'accumulation de lipides sur les parois artérielles, entraînant la formation de plaques d'athérome qui entraînent un rétrécissement de la lumière vasculaire (Ouweneel et Van Eck, 2015).

Ces rétrécissements ou sténoses artérielle peuvent conduire à l'obstruction de l'artère, généralement par un processus thrombotique, et être responsables d'accidents ischémiques cérébraux (Leborgne et *al.*, 2002 ; Skalicky et *al.*, 2008).

2.1.2.1. Formation de la plaque de l'athérosclérose

La progression de l'athérosclérose implique des étapes évolutives successives : la formation de la strie lipidique, la lésion fibro-lipidique et la formation de la plaque compliquée.

On connaît désormais les éléments clés dans la formation de la plaque : les lipoprotéines et les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales les macrophages et lymphocytes (Luscinskas et *al.*, 1991). Plusieurs processus s'associent pour la création de la plaque (Figure 1) :

L'infiltration des lipoprotéines dans l'intima artériel ; L'agrégation des monocytes et leur différenciation en macrophages, puis en cellules spumeuses (Navab et *al.*, 2001) ; la réponse inflammatoire (Libby, 2001) ; finalement, la formation de la chape fibromusculaire.

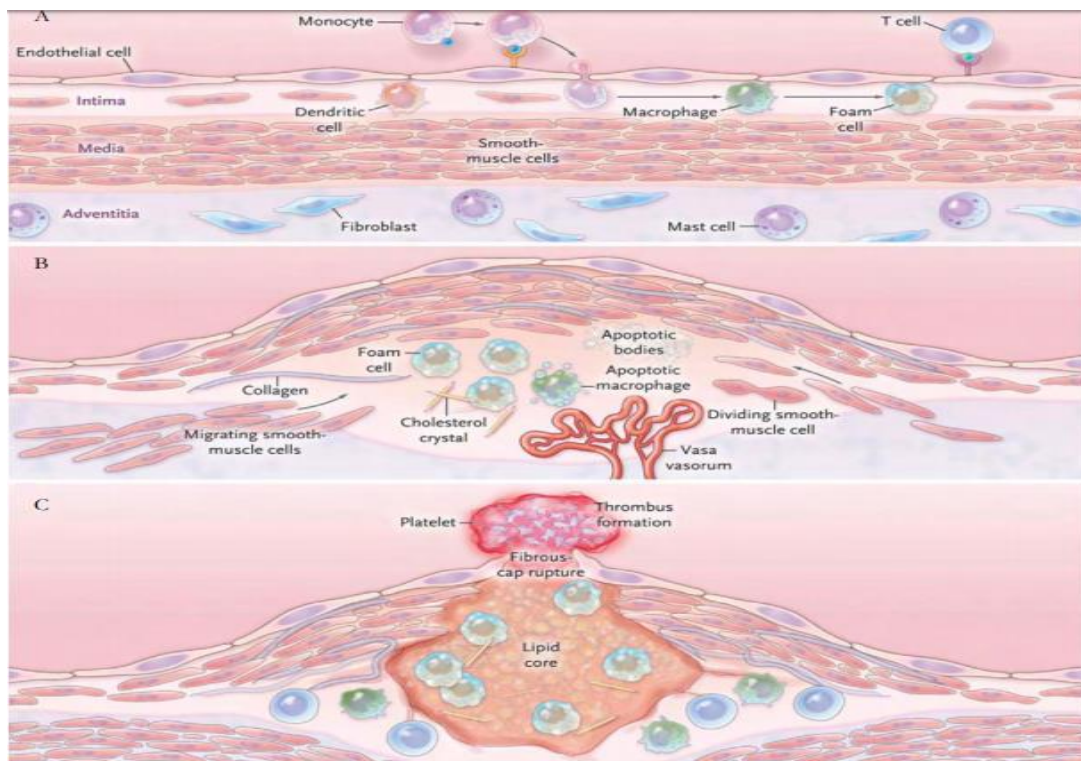


Figure 1. Étapes de la formation de la plaque d'athérome. (Nabel et Braunwald, 2012).

A : Les LDL sont piégées et oxydées sous l'endothélium suite au changement de leur perméabilité. Cela favorise le recrutement de monocytes qui vont convertir les LDL oxydées en cellules spumeuses. *B* : Ces cellules spumeuses s'agglutinent pour former un cœur lipidique. La migration et la prolifération des cellules musculaires lisses se génèrent pour recouvrir le cœur lipidique et former la chape fibreuse. *C* : Néanmoins, l'érosion de la plaque expose les composés pro-thrombotiques au contenu sanguin, favorisant ainsi la formation de thrombus ou de micro-thrombus.

L'hypercholestérolémie apparaît lorsqu'il y a une défaillance d'épuration hépatique du cholestérol sanguin ou une surproduction hépatique de cholestérol. En effet, une diminution de la captation du cholestérol par le foie entraîne une augmentation de sa synthèse.

La diminution de la captation hépatique du cholestérol est généralement associée à des anomalies des récepteurs de l'apo E et de l'apolipoprotéine B-100 ou du récepteur LDL (R-LDL), caractérisée par une mutation dans le gène structurant le R-LDL. Cette condition est classifiée en plusieurs catégories : défaut de synthèse, maturation et transport du récepteur LDL, défaut de fixation (qui indique un problème dans l'identification des lipoprotéines LDL) et défaut d'internalisation qui résulte d'une mutation par délétion responsable d'une défaillance combinée de liaison et d'internalisation.

Le résultat de cette mutation est un récepteur segmenté, modifiant son ancrage à la membrane et le rendant incapable de se lier aux LDL. Le dernier mécanisme décrit est un défaut de recyclage, comme c'est le cas pour l'hypercholestérolémie héréditaire ou l'inhibition de la fonction des récepteurs (Singh et Bittner, 2015).

2.2. Diabète et complications cardiovasculaires

Défini comme étant une affection métabolique, le diabète sucré, condition caractérisée par une hyperglycémie chronique ($\geq 1,26$ g/l), Ce déséquilibre concerne les métabolismes des glucides, des protéines et des lipides, et est causé par une insuffisance relative ou totale de la production et/ou de l'action de l'insuline (Ekoé et *al.*, 2013 ; ADA, 2011).

Le diabète est une maladie largement répandue, avec une prévalence estimée à 8,4% chez les adultes de 18 ans et plus en 2017 au niveau mondial (Cho et *al.*, 2018). En 2016, il a été estimé que le diabète était directement responsable de 1,6 million de décès. Plus de 80% des morts dues au diabète surviennent dans des pays à revenus faibles ou intermédiaires (OMS, 2018). Le nombre de diabétiques ne cesse de croître et en 2045, ils seront selon la fédération internationale du diabète près de 629 millions dans le monde (IDF, 2017).

L'Algérie n'échappe pas à l'épidémie du diabète, l'estimation la plus récente indique que la prévalence est de 6,9% pour la tranche d'âge 20-79 ans (IDF, 2017). Selon l'OMS (2016), le diabète serait responsable de 7% des décès, provoqués par les maladies non transmissibles.

Les formes de diabète se caractérisent par des signes relatifs d'un manque de sécrétion d'insuline ou d'une résistance à l'insuline accompagnée d'une hyperglycémie persistante (Schlienger, 2013), présence d'anomalies métaboliques des glucides, des protéines et des lipides, soit en raison de l'efficacité réduite de l'insuline (Ayaz et *al.*, 2015), ou à la résistance à l'insuline, qui se manifeste par une réduction de la sensibilité du foie, des muscles, et du tissu graisseux à l'insuline (Monroe et *al.*, 2015).

L'insulino-résistance entraîne à diverses anomalies qui surviennent plus souvent chez les individus souffrant d'une résistance à l'insuline. Cela inclut la dyslipidémie, l'intolérance au glucose, le dysfonctionnement endothélial, ainsi que des taux élevés de marqueurs inflammatoires et une perturbation du métabolisme de l'acide urique (Kaur et *al.*, 2014).

Dans le contexte du diabète, les maladies macrovasculaires représentent la principale source de mortalité et de morbidité, contribuant à l'incidence élevée des affections vasculaires comme les AVC, les infarctus du myocarde et les troubles vasculaires périphériques. Les complications macrovasculaires proviennent de la maladie athérosclérotique obstructive qui touche les artères majeures.

Parmi les altérations pathologiques des principaux vaisseaux sanguins menant à des anomalies fonctionnelles et structurales dans les vaisseaux diabétiques figurent la dysfonction endothéliale, la diminution de la complaisance vasculaire et l'athérosclérose (Tosenberger, 2014).

Plusieurs recherches ont indiqué que le stress oxydatif est souvent un facteur pathologique associé au dysfonctionnement des cellules bêta et endothéliales après une exposition prolongée à de hauts niveaux d'acides gras libres (AGL), de glucose, ou d'une combinaison des deux (Tangvarasittichai, 2016).

2.2.1. Le diabète de type 1 :

Le DT1, appelé également, diabète insulino-dépendant se manifeste par une dégradation progressive des cellules β des îlots de Langerhans et donc à un déficit en insuline. Il peut survenir à tout âge, mais il concerne le plus souvent les enfants (Calop *et al.*, 2008).

D'après Martin-Timon, (2014), le DT1 est susceptible de provoquer des complications, à moyen et à long terme. Il existe deux types de complications : la micro- et la macro-angiopathie. Les complications micro-angiopathiques touchent les petits vaisseaux, au niveau des yeux (rétinopathie), des reins (glomérulopathie) et des nerfs (neuropathie). Les complications macro-angiopathiques touchent les coronaires, les gros troncs artériels et les artères périphériques.

2.2.2. Le diabète de type 2 :

On le désigne parfois sous différents noms : diabète gras, diabète à insuline résistante, diabète non insulino-dépendant (DNID), ou encore diabète de type 2. C'est le plus courant. Cela constitue plus de 90 % des cas. Cette forme apparaît généralement après 40 ans et touche un pourcentage supérieur d'individus obèses (Prasad et Groop, 2015).

Il est caractérisé par une insulino-résistance et généralement un déficit relatif de sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas. L'hyperglycémie observée résulte d'une réduction de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques, en particulier le muscle, et une élévation de la synthèse hépatique de glucose (Smushkin, et Vella, 2010 ; Thomas et Philipson, 2015).

3. Les maladies liées au stress oxydant

3.1. Stress oxydant

Dans l'organisme, des composés à fort pouvoir oxydant sont constamment générés dans des conditions physiologiques, ce qui entraînant la mise en place d'un système antioxydant. Dans des conditions normales, l'équilibre entre les antioxydants et les pro-oxydants est maintenu.

Cependant, l'organisme peut être exposé de manière excessive à des composés oxydants suite à une exposition à un agent toxique exogène ou hyperproduction interne d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Lorsqu'un tel déséquilibre se produit, on parle de stress oxydatif (Favier, 2006 ; Ríos-Arrabal et *al.*, 2013).

De nombreuses pathologies sont liées au stress oxydant, que ce soit en tant que facteur déclencheur ou lié à des complications dans le cours de l'évolution (Braidy et *al.*, 2017). En générant des molécules biologiques chimiquement anormales et irréversibles, combiné à une surexpression de certains gènes, le stress oxydatif se révèle être la cause primaire déterminante de plusieurs pathologies : cancer, sclérose latérale amyotrophique, cataracte, syndrome de détresse pulmonaire aigue.

3.2. Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires

L'homéostasie vasculaire peut être rompue dans de nombreuses circonstances physiopathologiques, entraînant un stress oxydant délétère pour les cellules affectées et leurs fonctions vasculaires. L'origine de ce déséquilibre est variée et comprend, au moins partiellement, les facteurs classiques de risque pour le système cardiovasculaire, tels que l'hypercholestérolémie et le diabète.

C'est en particulier ce qui se passe dans le développement de l'athérosclérose, lorsque les LDL oxydées sont captées par les cellules « éboueus » (scavenger), accumulant les lipides dans le sous-endothélium, créant un cœur lipidique dans la plaque athéroscléreuse constituée, montrant, ainsi, le lien très étroit entre le stress oxydatif et l'hypercholestérolémie (Bhattacharya et *al.*, 2013).

3.3. Stress oxydatif et diabète

Le diabète se manifeste par une hyperglycémie qui déclenche diverses voies, y compris la production de produits de glycation avancés, aboutissant à un stress oxydant, à long terme. Effectivement, on observe une réduction des capacités de défense antioxydante et une augmentation des réactions pro-oxydantes (production des ERO, oxydation des lipides...) (Tangvarasittichai, 2015).

Chapitre II : les Agrumes : composition chimique, propriétés nutritionnelles et composés phénoliques

1. Les Agrumes

Le terme agrume provient du latin *acrumen* : aigre, signifiant "saveur acre" due à la présence de l'acide acétique (Haineault, 2011). Les agrumes trouvent leur origine dans les contreforts de l'Himalaya en Asie du Sud-Est, où ils poussent depuis 42 siècles et sont cultivés depuis 30 siècles. Le lieu d'origine est spécifiquement localisé sous une ligne qui traverse du Nord de la Birmanie au Nord-Est de l'Inde et au Sud de l'île de Haiman. À partir de cette région, la propagation s'est produite vers l'est en Inde, à travers l'archipel malais et jusqu'au sud de la Chine. (Jacquemont et *al.*, 2013).

1.1 Données botaniques

Les agrumes appartiennent à la famille des *Rutaceae*, qui constituent l'une des 21 familles de l'ordre Geraniales. La famille des *Rutaceae* est composée de 7 sous familles et 1600 espèces regroupés en 150 genres. D'après Swingle et Reece (1967), le terme « agrumes vrais », Il rassemble 6 genres appartenant à la tribu des *Citreae*, sous famille des *Aurantioideae*, et à la famille des *Rutaceae*.

La plus grande part des plantes cultivées appartient au genre *Citrus* (Figure 02). Deux autres genres incluent aussi des espèces : le genre *Poncirus* ne comprend qu'une seule espèce, le *Poncirus trifoliat*, utilisée surtout en agrumiculture comme porte greffe étant donné que ses fruits ne sont pas comestibles. Le genre *Fortunella* comprend six espèces dont deux seulement sont cultivées dans le monde ; Il s'agit de *Fortunella japonica* et *Fortunella margarita*.

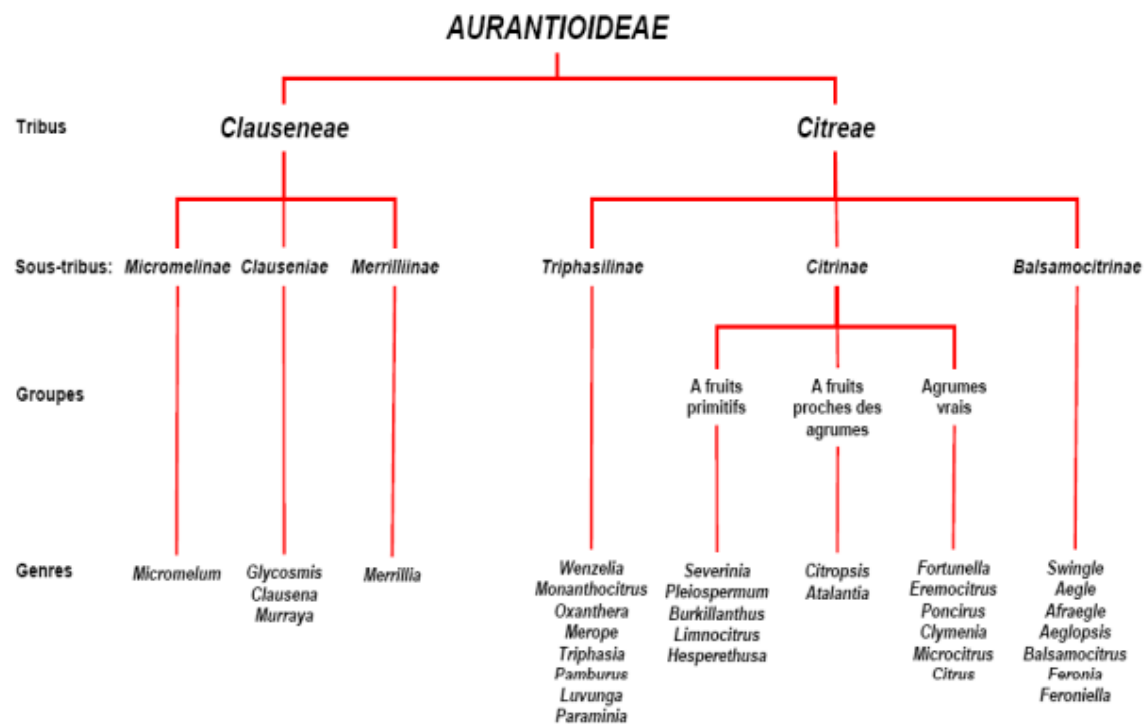


Figure 2 : Position Taxonomique des agrumes, d'après Swingle et Reece (1967)

Le genre botanique *Citrus*, est le plus important, regroupant une quinzaine d'espèces de petits arbres ou arbustes persistants : les oranges (*Citrus sinensis* Obseck) ; les mandarines (*Citrus reticulata* Blanco) ; les citronniers (*Citrus limon* L Burm) ; les clémentines (*Citrus clementina*) ; les limettiers (*Citrus aurantifolia*), les bigaradiers (*Citrus aurantium* L), et les pomelos (*Citrus paradisi*) (Goetz, 2014).

Il y'a une nouvelle classification d'agrumes, fondée par Mabberley (2008), où seules trois espèces figurent : *Citrus medica* (Cédrat), *Citrus maxima* (pomelos) et *Citrus reticulata* (Mandarine) impliquées dans la genèse de plusieurs hybrides :

- ✓ ***Citrus medica* L. (Cédrat)**, quatre hybrides :
 - ❖ ***Citrus limon* (Cédrat x Orange amère)** : les hybrides de citron comme citron Volkamer, Meyer et lime Palestine.
 - ❖ ***Citrus jambin* (Cédrat x mandarine)** : les hybrides similaires de citron âpre comme lime mandarine, lime Rangpur.
 - ❖ ***Citrus aurantifolia* (Cédrat x Citron x Ichang papeda)** : lime Bearss (**Lime x Citron**) et Lime (**lime mexicaine**).
 - ❖ ***Citrus bergamia* (Cédrat x Orange amère)** : La bergamote, provenant du croisement entre l'orange amère et le cédrat.
- ✓ ***Citrus maxima* Burm. (Pomelo)**, trois hybrides :
 - ❖ ***Citrus aurantium* (Pomelo x Mandarine)** : Bigaradier ou orange amère, ayant assimilé plus l'aspect du pomelo que de la mandarine.
 - ❖ ***Citrus x paradisi* (Pomelo x orange)** : Pamplemousse.
 - ❖ ***Citrus sinsensis* (Pomelo x mandarine)** : Orange douce ayant assimilé plus les caractéristiques de la mandarine. Comprend les croisements de pomelos, d'oranges et de mandarines.
- ✓ ***Citrus reticulata* Blanco.** : Mandarine (Satsuma, Clémentine et Tangerine).

1.2. Production mondiale des agrumes

D'après FAO (2017), la production mondiale des agrumes est évaluée à environ 124 246.0 mille tonnes (MT), (Tableau 03), 73% sont consommés à l'état frais, 26% pour la transformation et 9% sont exportés. Au sein des différentes sortes d'agrumes cultivées : l'orange (57%), la mandarine (30%), le pamplemousse (7%), la lime et le citron (6%) dans une production de 15 981.8 MT (Tableau 03).

La Chine occupe la première place en termes de production d'oranges à l'échelle mondiale, compte tenu des 32 705.9 MT d'agrumes produits en 2016, suivi du Brésil (16 555.1 MT), des Etats-Unis (7 829.0MT) et de l'Union Européenne (6,07 MT). Au sein de la zone Méditerranéenne, les douze pays du Comité de Liaison des Agrumes Méditerranéens, à savoir l'Algérie, l'Égypte, l'Espagne, la Grèce, l'Italie, le Maroc, la Tunisie et la Turquie, produisent un total de 25 216.0 MT d'agrumes.

Tableau 3 : Production totale d'agrumes (mille tonnes) (FAO, 2016).

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
MONDE	128.7	541.8	441.3	824.2	200.3	611.1	707.7	947.0	246.0
USA	11 500.2	10 267	10 193	10 919	10 813	10 301	8 751.0	8 208.0	7 829.0
Région									
méditerran	21 140.3	21 243	22 355	22 689	21 945	23 195	24 541	23 825.4	25 216.0
éenne									
Chypre	128.5	112.4	113.3	128.7	112.4	106.4	106.5	118.7	114.4
Grèce	987.5	958.2	923.4	1 127.7	1 078.1	1 097.1	1 123.6	1 049.6	1 041.5
Italie	3 457.7	3 799.8	3 779.3	3 537.0	2 883.9	2 678.7	2 661.6	2 808.5	3 150.2
Espagne	6 369.8	5 268.0	6 076.4	5 720.4	5 553.8	6 685.7	7 041.6	6 100.5	6 882.0
Algérie	697.4	844.5	788.1	1 106.8	1 087.8	1 204.9	1 271.0	1 289.9	1 372.4
Égypte	3 223.3	3 514.0	3 518.2	3 724.9	3 975.0	4 096.9	4 402.2	4 646.6	4 930.4
Maroc	1 093.0	1 093.3	1 345.5	1 636.3	1 867.0	1 452.1	2 213.6	1 899.4	2 018.9
Tunisie	300.2	288.0	300.2	325.7	337.8	309.3	326.4	329.9	331.4
Chine	21 690.2	23 739	23 974	28 939	31 830	34 261	36 467	38 153	32 705
Brésil	20 656	19 686	20 721	22 018	20 258	19 734	19 073	18 921.6	16 555.1

1.3. Importance de l'agrumiculture en Algérie

Dans le secteur agroalimentaire, les agrumes jouent un rôle crucial. Ils offrent donc un vaste domaine d'application s'étend de la consommation en frais à la transformation en jus et en confitures.

Les zones d'irrigation situées dans le nord du pays abritent la culture commerciale des *Citrus*. (Figure 03). La région de Mitidja, grâce à ses besoins spécifiques en eau et en qualité de sol, est la principale zone de production d'agrumes en Algérie. (Houchine, 2017), ainsi que les wilayas de Tipasa, Blida, Boumerdès et Alger.

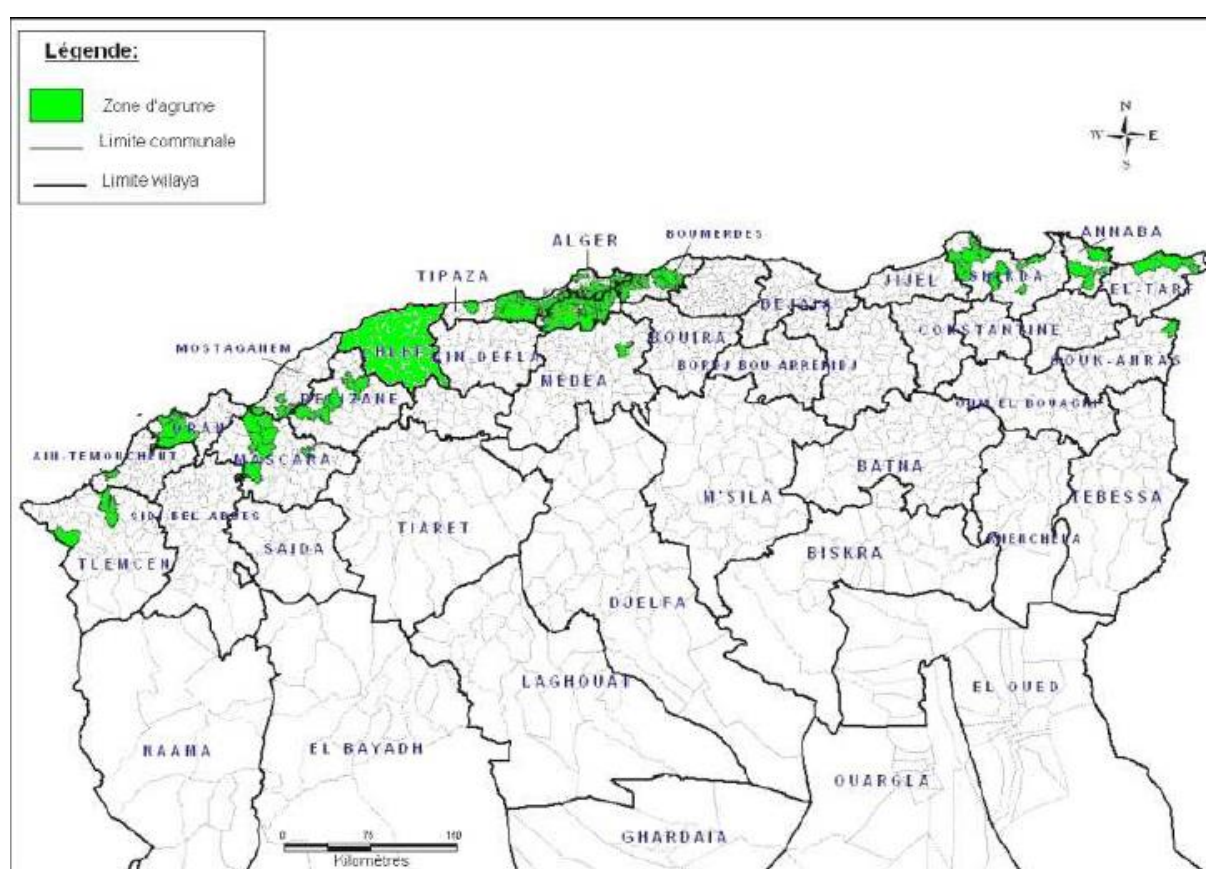


Figure 03. Répartition des agrumes en Algérie (F.A.O, 2012).

En 2010, la culture des agrumes occupe environ 63,589 hectares (Bellabas, 2011) avec 571.0 milles de tonnes de production (F.A.O, 2012). D'après F.A.O (2017), on estime que la production d'agrumes s'élevait à 13 millions de tonnes par an en 2016/2017.

Selon F.A.O (2017) la plaine de Mitidja est considérée comme le principal producteur national d'agrumes. La région d'Oued El-Alleug est le principal producteur d'agrumes à l'échelle nationale, avec une production de 500 000 quintaux au cours de la saison agricole 2015-2016.

En Algérie, l'analyse de la répartition des variétés d'agrumes indique que l'orange prédomine largement avec (62,3%), suivie par les clémentiniers et les mandarines qui représentent (30,4%). Puis viennent les espèces qui rencontrent des difficultés de commercialisation : les citronniers à (6,2%), les pomelos à (0,4%) et autres à (0,7%).

1.4. Description morphologique et physiologique

Selon Ramful et *al.* (2010), les fruits issus des principales variétés de *Citrus* cultivées présentent des différences en termes de taille, de forme, de couleur, de composition de jus et de période de maturité. Toutefois, tous les fruits de *Citrus* cultivés possèdent une structure anatomique identique (Figure 04).

Du point de vue botanique, Les agrumes sont de petits arbustes avec une taille varie entre 2 et 10 mètres de hauteur selon l'espèce. En général, leur feuillage est épais et leurs feuilles sont de nature persistante, sauf pour les *Poncirus*. Tous les éléments de l'arbre (écorce, branches, feuilles et fleurs) ainsi que ses fruits renferment des glandes à essence. L'écorce du fruit, appelée péricarpe, se compose de deux couches concentriques.

Cette couche externe, qui est souvent d'une couleur vive, jaune orange due à l'action des flavonoïdes, et qui présente une texture rugueuse et une résistance est appelée épicarpe ou flavédo. La couche interne d'une couleur blanche et spongieuse, représente le mésocarpe ou albédo (zeste) (Huet, 1991).

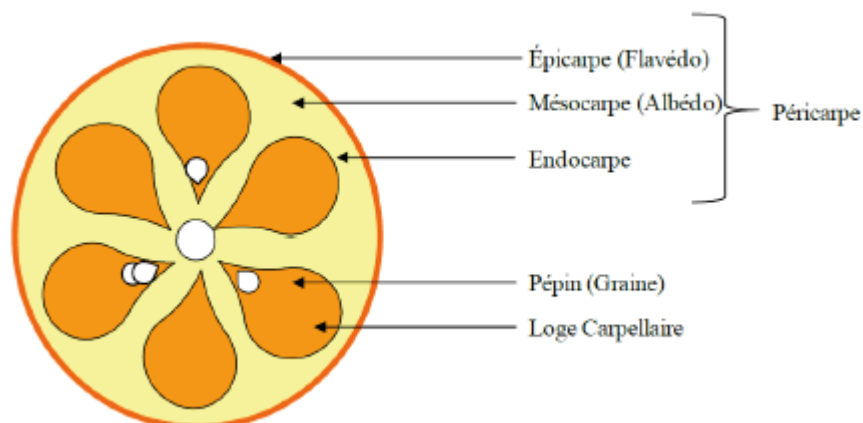


Figure 04. Schéma précisant la structure du péricarpe de l'orange (Huet, 1991).

L'endocarpe est la portion charnue, comestible, d'un agrume, composé d'une fine membrane tapissée plusieurs loges carpellaires remplies de poils succulents (la pulpe) et des graines dite pépins (Ramful et *al.*, 2010). Cette partie, riche en vitamine C, en sucres solubles et contient des quantités significatives de pectine, de fibres, de différents acides organiques et de sel de potassium, ce qui caractérise le fruit d'une certaine acidité (Razi et *al.*, 2011).

1.4.1 Description des espèces étudiées :

On peut trouver différentes variétés de *Citrus* consommés et exploités industriellement à travers le monde : oranges, mandarines, bigarades, limes, citrons, cédrats, pomelos, pamplemousses (Figure 5).

1.4.1.1 Les oranges :

👉 *Citrus sinensis* (L) Osbeck

L'oranger est un arbre d'une hauteur approximative de 7 à 8 mètres, doté des racines peu profondes, aux branches épineuses et des feuilles persistantes, ovales, lisses, présentent une couleur vert foncé brillant sur la face supérieure et produisent un parfum distinctif souvent semblable à celui du fruit. Elles sont attachées à un pétiole articulé légèrement ailé. Des fleurs blanches au parfum intense. Les fruits atteignent leur maturité entre 10 et 12 mois, possédant une taille moyenne, une forme sphérique et une teinte orange (Ortiz, 2002).

D'après Fanciullino et *al.*, (2008), les oranges douces sont les fruits les plus consommables et sont couramment utilisées pour la production de jus :

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

1.4.1.2 Les Bigarades

👉 *Citrus aurantium L amara*

Le bigaradier est un petit arbre fruitier pouvant atteindre de 5 à 10 mètres de hauteur, présentant de branches épineuses. Il est adapté au climat tempéré mais, très résistant au froid, jusqu'à 2C°. Les feuilles sont lisses, elliptiques, avec un pétiole ailé, disposées de manière alternée, entourer de glandes aromatiques et toujours vertes, dotées d'épines à l'aisselle des feuilles inférieures. Le pétiole mesure entre 2 à 3 cm de longueur. Les fleurs poussent aux aisselles et sont extrêmement parfumées, de teinte blanche ou rose, plus grandes que celles du bigaradier doux et très odorantes (Manner et *al.*, 2006).

Le fruit connu sous le nom de « Bigarade » est généralement rond, bien qu'il puisse parfois être ovale ou aplati ; il reste longtemps sur l'arbre sans perdre son arôme. L'orange bigaradier à jus très acides et amers.

1.4.1.3 Les mandarines

👉 *Citrus reticulata Blanco*

Selon Lim (2012), le mandarinier est un arbre de petite taille, mesurant entre 3 et 5 mètres. Ses feuilles, persistantes et de couleur vert foncé brillant, sont généralement lancéolées, ovales ou elliptiques et possèdent un pétiole étroitement ailé. Les fleurs apparaissent en blanc. Le fruit, quant à lui, peut être aplati ou en forme de poire ; son écorce varie du jaune à l'orange voire au rouge orangé et est riche en glandes huileuses. Lisse ou rugueux, il peut avoir une croûte mince ou épaisse. Les graines sont habituellement ovoïdes et lisses avec une base arrondie et un sommet aigu qui renferme plusieurs embryons, bien que la solitude soit rare. Les cotylédons sont verts

1.4.1.4 Les Citrons

Citrus limon (L) Burm

Le citronnier est un arbuste robuste, doté de branches solides et épineuses, de taille modeste (2 à 4 m de hauteur), sensible au gel, avec une longévité d'approximativement 40 ans ; il possède de larges feuilles odorantes et résistantes. Les fleurs, qui dégagent un parfum plaisant, se rassemblent dans l'aisselle des feuilles.

Selon Goetz (2014), les citrons sont des fruits ovales, avec un sommet pointu et mamelonné, mesurant de 8 à 12 cm de longueur. Leur écorce (zeste), d'une épaisseur notable et de couleur verte qui devient jaune à maturité, renferme une essence ayant un parfum distinctif. Sa pulpe a un goût acide et ses graines sont dotées de cotylédons de couleur blanche.

1.4.1.5 Les Pamplemousses

Citrus maxima (Burm)

Citrus maxima, appelé pamplemoussier, est une espèce d'arbre fruitier qui peut atteindre jusqu'à dix mètres en hauteur. Selon les variétés, les branches peuvent être dispersées, avec ou sans épines. Les feuilles sont de taille importante, ovales et persistantes, avec des pétioles largement ailés. Les fleurs sont arrangées en bouquets subtilement duveteux. La corolle, de couleur blanche et d'une odeur prononcée, est formée de cinq pétales.

Le fruit du pamplemoussier, appelé pamplemousse, peut présenter un diamètre allant de 10 à 30 cm et a une forme globale qui peut être arrondie, aplatie ou en forme de poire. Il ne faut pas le prendre pour du pomelo que l'on trouve souvent sur les marchés. Son écorce, qui peut être jaune, rosée ou verdâtre, est d'une grande épaisseur et très lisse et se pèle facilement.

La chair a un goût amer et acide en raison de la présence de naringoside, qui est à l'origine du goût amer du jus de ce fruit. La naringine est le flavonoïde hétéroside majeur que l'on retrouve dans le pamplemousse et le pomélo (Goetz, 2014).



(A) Citrus sinensis



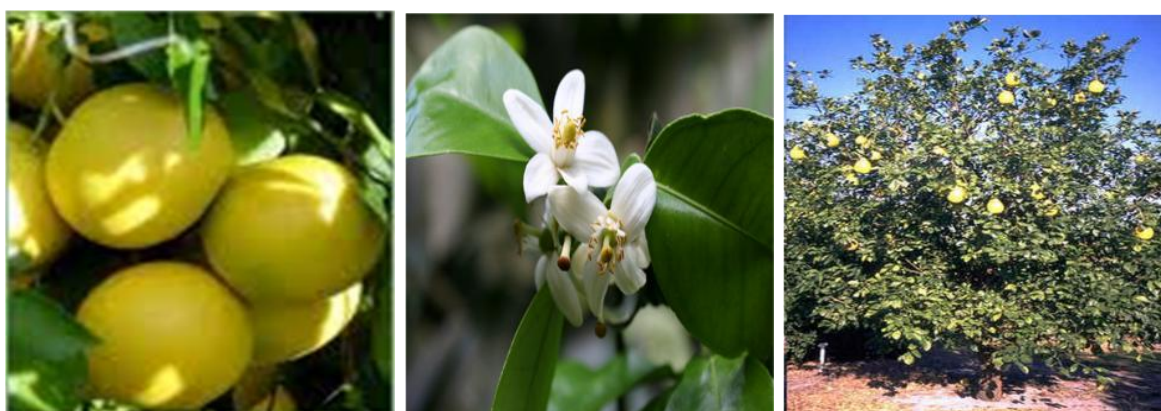
(B) Citrus aurantium



(C) Citrus clementina



(D) *Citrus limon*



(E) *Citrus grandis*

Figure 05. Photographies des fruits, fleurs et arbres de quelques espèces du *Citrus*

(A) : *Citrus sinensis* ; **(B)** *Citrus aurantium* ; **(C)** : *Citrus clementine* ; **(D)** *Citrus limon* ; **(E)** : *Citrus grandis*.

1.5. Valeur nutritive des *Citrus* :

La composition nutritive des agrumes peut fluctuer en fonction de différents facteurs, y compris la variété. En outre, au sein d'une même variété, la teneur de différents composés est influencée par les facteurs climatiques et environnementaux (M'hiri, 2015). *Le Citrus* possède une chair juteuse, dont la proportion d'eau varie de 82,3% pour l'orange à 91% pour la lime. La mandarine et la clémentine sont les variétés avec le plus d'énergie, suivies de près par l'orange et le pamplemousse.

Glucides

Le saccharose, le fructose et le glucose sont les composants énergétiques majeurs des *Citrus*. L'orange douce et la mandarine sont les fruits les plus abondants en ces éléments, contenant entre 10 et 15,5g pour 100g de fruit. Ces fruits renferment des polysaccharides complexes, principalement la pectine, qui sont concentrés dans l'écorce de l'orange et du citron. C'est ainsi qu'ils sont perçus comme étant les principales sources d'énergie pour l'industrie (Liu et *al.*, 2012).

Protéines :

Les agrumes ne sont pas particulièrement riches en protéines (0,7 à 1g pour 100g de fruit), ni en lipides (0,2 à 0,6g pour 100g de fruit). Les pépins et la pulpe du fruit contiennent seulement des quantités faibles, à l'exception de la lime (2,4g/100g) ; en fin, comme tous les fruits juteux, l'orange a une faible teneur en protéines, ce qui explique pourquoi elle est considérée comme un fruit peu énergétique avec une moyenne de 45 calories pour 100g (Liu et *al.*, 2012).

Fibre :

Les *Citrus* contiennent les quatre formes de fibres alimentaires : la cellulose, l'hémicellulose, la pectine et des traces de lignine. Leur présence, significative avec un contenu variant de 1,3 g à 2,4 g pour 100g, contribue à la régulation du transit intestinal (Liu et *al.*, 2012).

👉 Les acides organiques :

Principalement composés d'acide citrique, dont la présence varie selon les variétés, de petites proportions d'acide malique peuvent être plus ou moins abondantes. Toutefois, leur concentration est souvent située entre 0,6 g et 1 g pour chaque 100 g de fruit : citron : 5 % ; pomelo : 1,9 % ; orange : 1,2 % (Liu et *al.*, 2012).

👉 Vitamines :

Les agrumes sont des sources importantes de la vitamine C, ces quantités varient selon l'espèce : on compte 77 mg/100g de citron, 71 mg/100g d'orange et 31 mg/100g de mandarine. D'autres vitamines, comme la provitamine A et les vitamines B (thiamine, riboflavine, vitamine B6), sont présentes en quantités infimes (Etebu et Nwauzoma, 2014).

👉 Minéraux :

Les *Citrus* renferment également une diversité d'oligo-éléments et de minéraux, dont principalement le potassium et le calcium, aussi du magnésium, du fer et des traces d'autres oligo-éléments (Liu et *al.*, 2012).

2. Les antioxydants

Notre organisme régule la production de radicaux libres et met en place des moyens de défense antioxydant permettant la protection de ces radicaux contre les effets potentiellement destructeurs. On définit un antioxydant comme toute substance, à faible concentration, qui peut d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables pour retarder ou empêcher ainsi, leur l'oxydation (Rahal et *al.*, 2014).

Un antioxydant idéal devrait être facilement assimilé pour neutraliser les radicaux libres et chélater les métaux à des niveaux physiologiques adéquats. Certains antioxydants peuvent interagir entre eux et régénérer leurs caractéristiques d'origine, un processus fréquemment désigné sous le terme de « réseau antioxydant ».

2.1. Antioxydants enzymatiques

D'après Jeeva (2015), pour se défendre contre les attaques, l'organisme développe des mécanismes d'action antioxydante :

- ✓ Éliminer les réactives de l'oxygène et les éléments catalyseurs de leur production.
- ✓ Provoquer la production de synthèse des antioxydants.
- ✓ Stimuler l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules qui sont abîmées.

Trois catégories d'enzymes antioxydantes sont employées pour l'élimination des espèces réactives à l'oxygène (Figure 6).

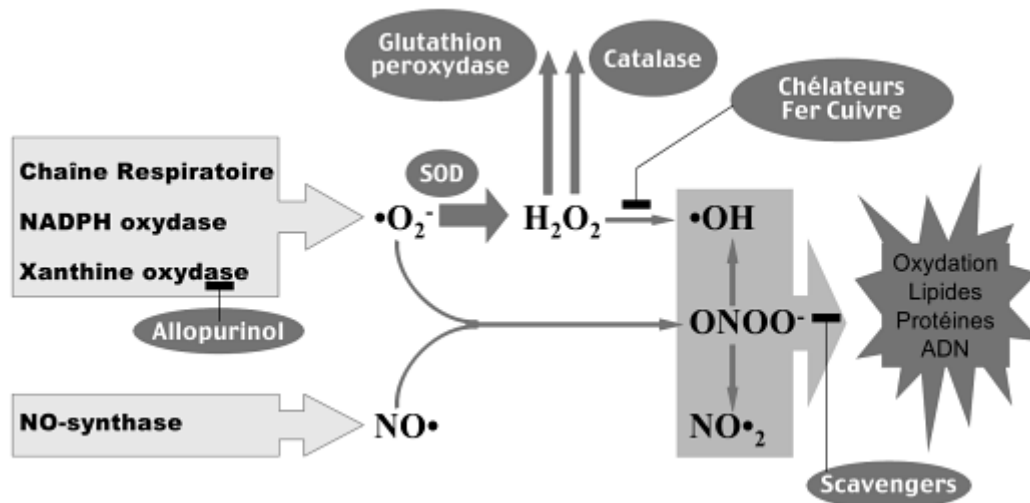


Figure 06. Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène

- ✓ Les super oxyde dismutases (SOD), ils agissent comme catalyseurs pour la dismutation de l'anion super oxyde en peroxyde d'hydrogène.
- ✓ La catalase, enzyme catalysant la réaction de dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau, contribue à son élimination.
- ✓ La glutathion peroxydase (GPX) utilise le glutathion pour décomposer le peroxyde d'hydrogène.

2.2. Antioxydants non enzymatiques

Les nutriments issus de l'alimentation naturelle ou les composés endogènes constituent des systèmes antioxydants non enzymatiques. Ils ont la capacité de capturer les agents oxydants ou de ralentir les processus d'oxydation, créant ainsi des entités stables qui pourraient être supprimées par d'autres systèmes antioxydants. Selon Kabel (2014), les antioxydants non enzymatiques majeurs comprennent le glutathion, la α -tocophérol, l'acide L-ascorbique, la caroténoïde, l'acide urique et les composés polyphénoliques.

En général, les antioxydants endogènes non enzymatiques sont des thiols tels que le glutathion (GSH), l'acide lipoïque, l'acide urique, la bilirubine, la mélanine et la mélatonine. Le glutathion (principalement présent sous forme réduite) est essentiel pour protéger les lipides, les protéines et les acides nucléiques contre l'oxydation.

Il est perçu comme une coenzyme des GPx et montre aussi une interaction synergique avec d'autres antioxydants comme la vitamine C ou la vitamine E (Mironczuk-Chodakowska et *al.*, 2018).

Les antioxydants exogènes peuvent provenir de sources naturelles ou synthétiques. La forte toxicité des antioxydants synthétiques, couramment utilisés dans l'industrie alimentaire tels : le butylhydroxytoluène (BHT), l'hydroxyanisole butyle (BHA) et le tertbutylhydroquinone (TBHQ), a entraîné une recherche de nouvelles sources naturelles d'antioxydants dans le règne végétal.

Effectivement, ces dernières constituent une source renouvelable riche en antioxydants, comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et les composés phénoliques (Moussa et *al.*, 2019).

2.2.1. La vitamine C

La vitamine C est le principal antioxydant organique présent dans les agrumes, tant en termes de quantité que de qualité. Cette vitamine peut piéger les radicaux libres (Rock et Fardet, 2014) mais son avantage principal est sa propriété de régénérer la vitamine E dans la membrane.

La vitamine C est caractérisée pour ses propriétés antioxydantes., en effet, elle est reconnue pour son efficacité en tant que piègeur d'espèces réactives de l'oxygène. ; il réagit avec l'anion superoxyde ($\text{OH}\bullet$), l'oxygène singulet ($\text{O}_2 \bullet^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ou encore inhibe la peroxydation lipidique en reconstituant. La vitamine E est dérivée de la forme radicalaire résultant de sa réaction avec les radicaux lipidiques (Kabel., 2014).

2.2.2. Vitamine E

Le nom " vitamine E" désigne généralement les différents tocophérols et tocotriénols. Il s'agit des composés liposolubles qui se composent d'un noyau polaire et d'une chaîne hydrophobe. Cette vitamine contribue à la suppression des ERO, notamment de l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ et du radical peroxy OH , et protège les structures membranaires ainsi que les lipoprotéines contre l'oxydation par le biais de ses propriétés phénoliques réductrices.

De plus, des études ont démontré que la vitamine E réduit la vulnérabilité des LDL à l'oxydation et contribue à la protection contre l'athérosclérose (Kabel., 2014).

Effectivement, les lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydées ne sont plus identifiées par leurs récepteurs et sont par conséquent dégradées par les macrophages. L'accumulation d'une grande quantité de cholestérol et de lipides entraîne à la formation de plaques d'athérome. Les antioxydants, notamment la vitamine E, en capturant les radicaux $\text{LOO}\bullet$, diminuent le déclenchement et la progression de l'oxydation de ces lipides (Jialal et *al.*, 1995).

2.2.3. Caroténoïdes

Ce sont des pigments provenant des plantes, et elles sont regroupées en deux grandes catégories : les carotènes et les oxocaroténoïdes (xanthophylles), qui se distinguent par l'absence ou la présence de fonctions hydroxyles respectivement.

La capacité antioxydante qu'ils possèdent est attribuée à leur chaîne polyène prolongée, qui leur permet d'interagir avec les radicaux $\text{ROO}\bullet$, $\text{HO}\bullet$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\text{R}^{\cdot}$ par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, notamment la neutralisation de l'oxygène singulet (Kabel, 2014).

2.2.4. Les composés phénoliques

Les polyphénols, également appelés composés phénoliques, sont des métabolites secondaires dotés d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou liés à un glucide.

On les trouve dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et ils jouent un rôle clé dans divers processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou encore la maturation des fruits (Ma et *al.*, 2011).

Ces composés se distinguent par la complexité du squelette principal, le niveau de transformation (méthylation, oxydation, association avec d'autres molécules... etc.), ainsi que par leur propagation dans diverses parties de la plante (tissus et cellules des feuilles, tiges, fruits).

Plusieurs catégories existent (Figure.07), comme les tanins, les flavonoïdes, les lignines, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques et les xanthones qui sont des composés phénoliques dotés d'un noyau simple (Ma et *al.*, 2011).

Actuellement, les composés phénoliques sont reconnus pour leurs activités pharmacobiologiques exceptionnelles telles que : la réduction du taux de cholestérol (Cheurfa et Allem, 2015), les propriétés antivirales, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antithrombotiques et hépato protectrices (Nasri et *al.*, 2018).

Ces activités sont en partie associées aux caractéristiques antioxydantes de ces composés naturels.

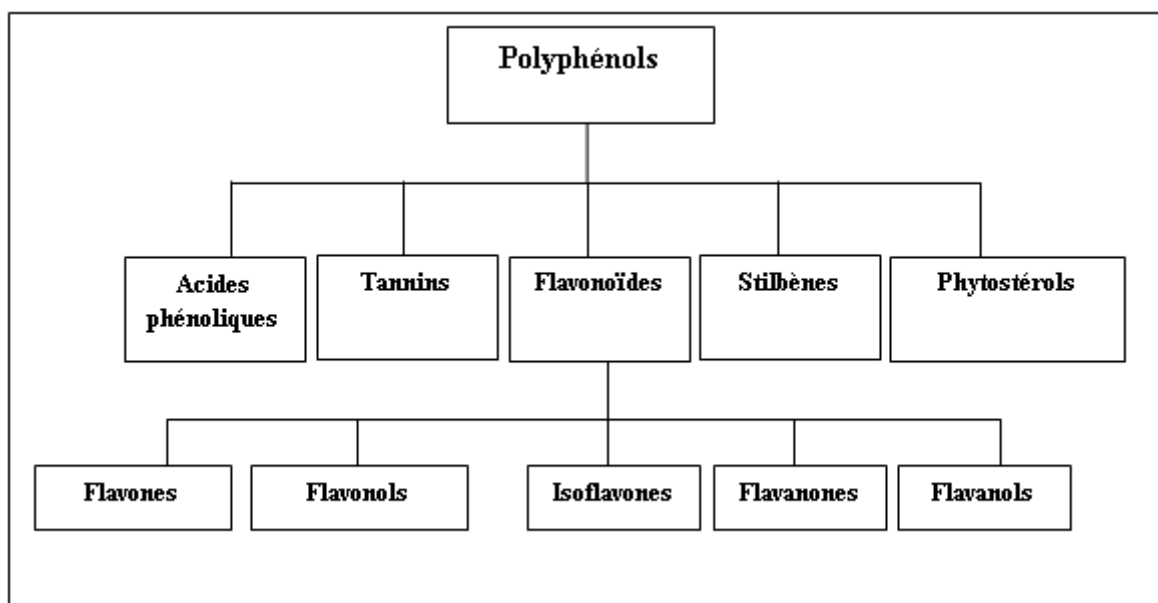


Figure 07. Différentes classes des composés phénoliques (Macheix et *al.*, 2005)

2.2.5. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques se distinguent par la présence d'un groupe acide et de multiples groupes phénoliques ; ils sont rarement présents à l'état libre et sont en général combinés à d'autres molécules organiques. Ils proviennent principalement de l'acide hydroxybenzoïque ou de l'acide hydroxycinnamique, d'où le cycle hydroxylé du benzène (Macheix et *al.*, 2005).

2.2.6. Les flavonoïdes

Il s'agit de composés phénoliques de poids moléculaire réduit qui ont un squelette carboné structuré en C₆-C₃-C₆, comprenant 15 atomes de carbone (Figure 08). Ce dernier forme deux noyaux aromatiques identifiés par les lettres (A et B) et un hétérocycle (C) à oxygène dont la nature définit l'appartenance du flavonoïde à un groupe spécifique.

Les principales catégories de flavonoïdes que l'on trouve dans les agrumes sont les flavanones, les flavones et les flavonols. Chaque groupe englobe un ensemble varié de composés qui se distinguent par leur degré d'hydroxylation et de glycosylation.

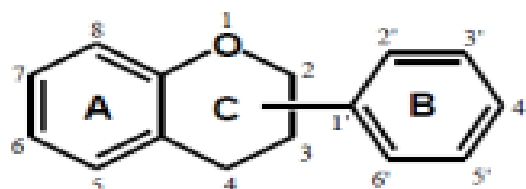


Figure 08. Structure de base des flavonoïdes (Tsao, 2010).

Selon Tsao (2010), les fruits et les feuilles du *Citrus* sont riches en flavonoïdes qui se présentent sous forme glycoside ou aglycone. Il existe 60 variétés de ces composés, classées en cinq catégories : flavones, flavanones, flavonols, flavanes et anthocyanines, avec une prédominance pour les flavonones, particulièrement l'hespéridine (98% des flavonoïdes de pamplemousses, 96% de lime et 90% de citrons sont des flavonones).

Dans les jus extraits de diverses espèces de *Citrus*, l'hespéridine (flavonone) et la diosmine (flavone) sont les composants dominants (Figure 09). La naringine (flavanone) est essentiellement présente dans le pamplemousse. Concernant à l'eriocitrin (flavone), il est largement présent dans le zeste du citron et de la lime. Cette dernière possède l'activité antioxydante la plus élevée parmi les flavonoïdes glycosylés (Del Río et al., 2004).

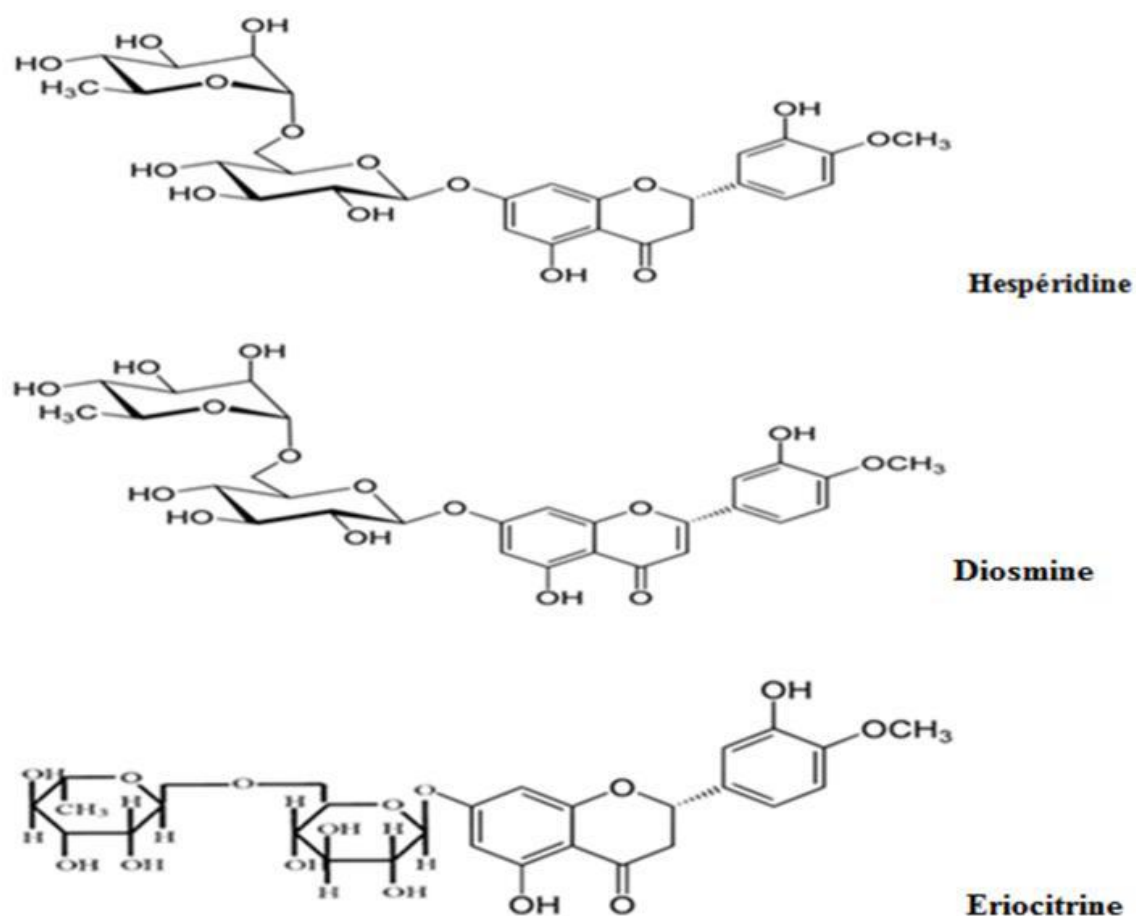


Figure 09. Structure chimique de quelques flavonones et flavones du *Citrus* (Del Río et *al.*, 2004)

La répartition de ces flavono  ides chez les *Citrus* n'est pas uniforme ; le zeste, par exemple, le zeste en contient plus que les graines. Les flavono  ides les plus présents dans l'ensemble des agrumes sont les 7-O glycosyl flavanones (neohesperidoside, naringine, néohespéridine, l'hespéridine, narirutine et le didymine) ; toutefois, dans les feuilles du citrus, on retrouve principalement l'hesperidine, diosmine, l'isorhoifoline, le 6,8-di-C-glucosylapigenine et le 2 Oxylosylvitexin.

3. Intérêt des biomolécules

Les agrumes sont généralement connus par leur richesse en substances nutritionnelles et antioxydantes comme les acides phénoliques, les flavonoïdes, les vitamines et les pectines, que ce soit dans le fruit (écorce, pulpe, jus), les fleurs ou même les feuilles (Zou et al., 2016).

On a identifié plus de 170 composés phytochimiques dans les citrus, parmi lesquels les flavonoïdes qui représentent une classe particulièrement importante. Les agrumes sont une source primordiale de vitamine C, un antioxydant de référence.

Selon Rock et Fardet, (2014), la vitamine C stimule entre 77 et 96% de l'activité antioxydante totale observée dans le jus d'orange. En outre, les agrumes sont riches en acides phénoliques dont les concentrations varient selon l'espèce, tels que l'acide gallique, procatéchique, p-hydroxybenzoïque, vanillique, salicylique, ainsi que le caféique, le ferulique, le sinapique et le p-coumarique (Zou, 2016).

3.1. Activité anti-oxydante

Nombreux rapports ont décrit les propriétés antioxydantes des polyphénols une fonction largement attribuée à leurs groupes hydroxy phénoliques. Les composés phytochimiques des agrumes sont nombreux et varient selon leur espèce, leur origine et leurs différents tissus (Zou, 2016 ; Ferlazzo et al., 2015) (Figure 10).

De plus, Rekha et al. (2012) ont constaté que la capacité antioxydante des jus de fruits était directement liée à la teneur en composés phénoliques totaux et en vitamine C présente dans certaines variétés d'agrumes.

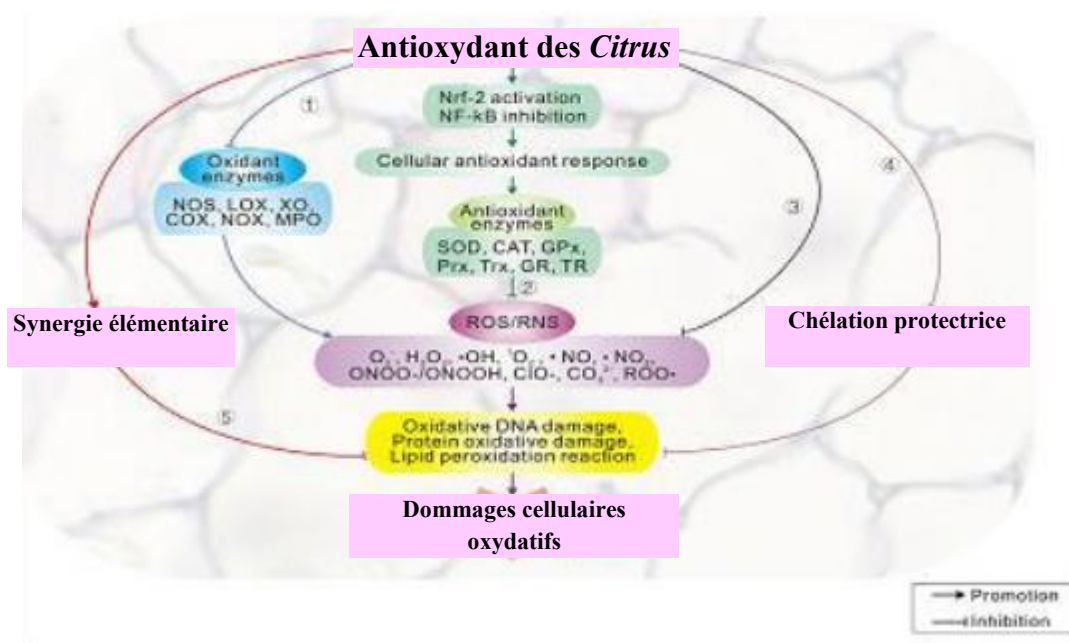


Figure 10. Représentation schématique du potentiel antioxydant et du mécanisme d'action des *Citrus* (Zou et al., 2016)

Cinq voies sont suggérées dans la littérature :

- ✓ Inhibition des enzymes oxydantes, entraînant une réduction de la production cellulaire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des espèces réactives de l'azote (RNS).
- ✓ Interaction avec les voies de signalisation redox, entraînant une réponse cellulaire anti-oxydante.
- ✓ Chélation avec des métaux de transition entraînant une production réduite de dommages oxydatifs.
- ✓ Interaction de l'élément synergique, qui a un impact sur le système antioxydant dans son ensemble.

Les enzymes oxydantes responsables de la production de ROS/RNS sont les suivantes : NOS (oxyde nitrique synthase), LOX (lipoxygénase), XO (xanthine oxydase), COX (cyclooxygénase), NOX (NADPH oxydase), MPO (myéloperoxydase).

Les enzymes antioxydantes sont : SOD (superoxyde dismutase), CAT (catalase), glutathion peroxydase (GPx), Prx (peroxiredoxine), Tr X (thiorédoxine), GR (glutathion réductase), TR (thiorédoxine réductase).

3.2. Effet antimicrobien

L'utilisation excessif des antibiotiques peut être à l'origine de la dégradation de la flore intestinale normale et de la prolifération des germes pathogènes résistants aux antibiotiques. Le problème de la résistance aux antibiotiques se pose de manière croissante et pressante à l'échelle mondiale. Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, se caractérisent par leur toxicité envers les microorganismes (Dhiman et al., 2012).

3.3. Effets Hypolipidémique et antidiabétiques

L'hyperlipidémie constitue un risque important pour l'apparition et l'évolution de l'athérosclérose ainsi que de la maladie coronarienne. Des recherches épidémiologiques multiples ont démontré une relation inverse entre l'ingestion d'aliments riches en polyphénols et le risque de survenue des pathologies cardiovasculaires (Tounsi et al., 2011).

Les flavonoïdes aident à favoriser la dilatation des vaisseaux coronaires, à réduire l'agrégation des plaquettes et à empêcher l'oxydation du mauvais cholestérol (LDL). Selon des recherches menées par Khan et al. (2016), une consommation élevée de flavanones, un type de polyphénols qu'on trouve spécifiquement en abondance dans les agrumes, serait liée à une diminution du risque d'accidents coronariens et cérébro-vasculaires. Des études expérimentales, réalisées *in vivo* et *in vitro*, indiquent que les flavanones (comme l'hespéridine ou la naringine) ont des effets hypolipémiants, hypotensifs et anti-inflammatoires.

Une autre recherche a démontré que les flavonoïdes issus des agrumes ont de nombreuses propriétés au niveau du système cardiovasculaire : ils favorisent la dilatation des vaisseaux sanguins en stimulant la libération de NO par les cellules endothéliales ; inhibent l'action de la cyclooxygénase et de la lipooxygénase ; empêchent l'agrégation plaquettaire (flavonols, catéchines) ; réduisent le taux de cholestérol dans le sang (isoflavones) et régulent l'expression des gènes (Li et Schluesener, 2017)

D'après Gossiau et ses collaborateurs (2018), l'accumulation des radicaux libres, libérés par les cellules immunocompétentes ou dérivées des conditions d'hyperglycémie et de dyslipidémie, sont responsables de la progression du Type II.

Dans un cercle vicieux, les radicaux les plus réactifs, formés par un taux élevé de glucose, accélèrent une altération du récepteur de l'insuline, provoquant une déconnexion supplémentaire de la cascade d'insuline, conduisant ainsi à une hyperglycémie chronique et à une résistance à l'insuline.

3.4. Autres activités biologiques

Des études scientifiques, réalisées sur les extraits et les jus de Citrus, ont démontré d'autres propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte, les travaux de Khan et ses collaborateurs (2016) sur des rats soumis à l'action de l'acide trinitrobenzen sulfonique (TNBS) où l'administration des jus des *Citrus sinensis L*, *Citrus paradisi L* et leurs combinaisons a favorisé des actions anti-inflammatoires.

Des études suggèrent un rôle protecteur des *Citrus aurantium L* et ses flavonoïdes exercent des actions anti-inflammatoires, diminuent la perte de poids et la diarrhée et évitent la contraction isolée du jéjunum chez les rats atteints de l'inflammation de l'intestin induite par le TNBS (He et *al.*, 2018).

Il a été montré que les flavonoïdes des agrumes peuvent être des agents neuro protecteurs importants contre le stress oxydatif en éliminant directement les radicaux libres, en induisant des voies de régulation pro survivantes ou en améliorant indirectement les mécanismes de défense antioxydante endogène.

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES

La partie expérimentale (*in vitro*) a été effectuée dans les Laboratoires du de Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Djillali Bounaama Khemis Miliana, Algérie.

L'activité antibactérienne a été effectuée au sein du Laboratoire médical, Service de Microbiologie et du laboratoire d'analyses médicales et biologiques privé de Mr Abdellah Zibouche, Ain defla Algérie.

Les analyses nutritionnelles, physiques et chimiques des jus et extrait de feuilles de *Citrus* sont effectuées au niveau Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico- Chimiques privé CRAPC wilaya de Tipaza.

La partie expérimentale (*in vivo*) a été effectuée au sein du Laboratoire de Toxicologie et Pharmacologie du groupe ANTIBIOTICAL-SAIDAL. MEDEA - Algérie.

1. MATERIEL

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal ayant servi à cette étude est constitué de dix variétés des agrumes (*Citrus*). Les feuilles et les fruits de dix espèces de *Citrus* :

❖ Orange douce (*Citrus sinensis* L.)

- ✓ Navel : *C. sinensis* L. varieties : Thomson, Washington.
- ✓ Blood : *C. sinensis* L. varieties : Sanguinelli, Double Fine et Portugaise.
- ✓ Blond : *C. sinensis* L. variete : Jaffa.

❖ Orange amer (*Citrus aurantium* L.)

- ✓ variété : Bigarade.

❖ *Citrus limon*

❖ *Citrus clementine* variété : mandarine (clementine).

❖ *Citrus maxima*, variété : pamplemousse.

Faisant l'objet de cette étude ont été collectées à partir d'arbres cultivés la région de Métidja, qui se trouve dans la wilaya de Blida (latitude : 36°36'0" N ; longitude 3°0'0" E ; altitude 55 m) (Figure 11). La cueillette a été réalisée de manière aléatoire durant la période allant de janvier à avril 2014 / 2015.

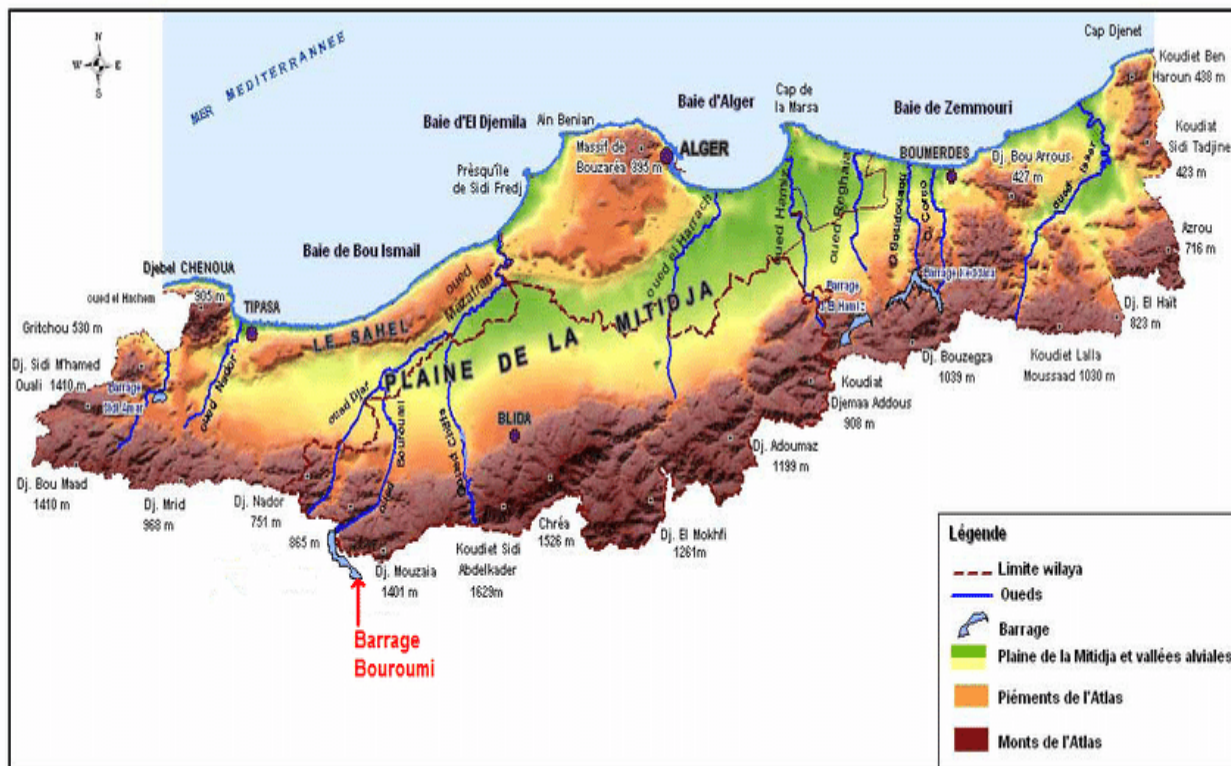


Figure 11. Carte géographique de la région de Blida indiquant la zone de récolte.

Après leur récolte, les feuilles de diverses espèces de citrus à examiner ont été rincées à l'eau courante pour éliminer poussières et autres impuretés. Elles ont ensuite été séchées à l'ombre, à température ambiante et sous aération constante pendant une durée de sept jours. Par la suite, elles ont été placées dans un four à 40°C jusqu'à ce que leur poids soit stabilisé.

Les feuilles séchées ont été réduites en poudre homogène grâce à un moulin, puis ont été tamisées à l'aide d'un tamiseur de la marque « RETSCH », en effectuant une série de tamisages successifs avec des diamètres de 1 mm, 500 µm, 250 µm et 200 µm.

Le rendement d'extraction est fortement influencé par la taille des particules de l'échantillon ; une extraction plus efficace est réalisée avec des particules de taille inférieure, dont la surface de contact avec le solvant est considérablement accrue (Naczki et Shahidi, 2004).

La poudre fine homogène obtenue a été placée dans des conteneurs en verre soigneusement fermés, identifiés et conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à utilisation.

Pour la préparation du jus des *citrus* tous les échantillons de fruits (orange douce, orange amère, clémentine, pamplemousse et citron) ont été nettoyés, lavés à l'eau, puis épluchés, pressés ensuite soumis à une filtration. Au moment des dosages, le jus provenant des agrumes a été soumis à une centrifugation à 1500 tours par minute pendant 10 minutes, en utilisant une centrifugeuse (Beckman Microfuge ETM). La solution claire obtenue a été employée sans recours à une purification supplémentaire.

1.1.2. Bactéries pathogènes

Pour les tests d'activité antibactérienne, une gamme de 8 bactéries pathogènes (Gram positif, Gram négatif) présentée dans le tableau 4 responsables des infections gastro-intestinales ont été choisies.

Les souches de collection internationale *ATCC* (American type culture collection), ont été fournies par l'Institut Pasteur (Algérie).

Tableau 4 : Description et pouvoir pathogène des souches testées

Bactéries	Espèces	Références	Pouvoir pathogène
Gram positive	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12223	Infections nosocomiales, cutanées, ou urinaires
	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49452	Infections nosocomiales et urinaire
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Intoxication alimentaire
	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9378	Infection alimentaire, intoxication alimentaire.
	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 533	infections nosocomiales, cutanées
Gram negative	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gastro-entérite et infection urinaire
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Infections respiratoires, intestinales et urinaires
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Infection nosocomiale

1.1.3. Les animaux

Les différentes études *in vivo* sont réalisées sur des rats males wistar, ayant un poids moyen compris entre 120 g et 220 g, fournis par l'Institut Pasteur d'Alger. Ces animaux sont placés dans des cages avec un couvercle en acier inoxydable, au niveau de l'animalerie du Centre de Recherche et de Développement (CRD) SAIDAL-Alger (Annexe II).

La nourriture et l'eau sont fournies *ad libitum*. L'aliment utilisé est sous forme de croquettes provenant de la société de production des aliments d'animaux, Bouzaréat, Alger.

La composition indique : glucides 49,80 %, protéines 23,50 %, lipides 5,00 %, minéraux + vitamines 5,70 %.

Les rats sont maintenus à une température ambiante (25°C) avec un cycle naturel de lumière/obscurité 12/12h.

2. METHODES

2.1. Préparation des extraits méthanoliques

L'extraction constitue une phase essentielle avant d'effectuer l'analyse quantitative et qualitative en tant que telle. Elle est affectée par la méthode d'extraction sélectionnée en fonction des composés phytochimiques à analyser. Des éléments additionnels tels que le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les durées, ainsi que la quantité et les phases d'extractions individuelles contribuent aussi de manière significative à cette procédure.

L'extrait hydro-alcoolique a été préparé selon la méthode de macération décrite par Elfalleh et *al.* (2012), avec quelques modifications. 10g de poudre végétale est mise à macérer dans 100 ml d'un mélange méthanol/eau à 80/20 (v/v) à température ambiante, cette préparation a été mise sous agitation magnétique pendant 22 heures.

Les extraits obtenus ont été filtrés à travers du papier filtre Whatman 01 et centrifugés à 5000 tr / min pendant 10 min. Le surnageant a été soumis à une évaporation sous vide via un rota vapeur 45°C. Les extraits concentrés sont conservés à une température de 4°C dans des flacons en verre sombre jusqu'à leur emploi.

Un millilitre de jus a été extrait avec 9 ml de méthanol à 80% pendant 30 min à température ambiante (Xu et *al.* 2008). Après centrifugation à $3000 \times g$ pendant 10 min, le surnageant a été utilisé pour des analyses chimiques et la détermination de leurs activités biologiques.

2.1.1. Calcul du rendement

Les taux d'extraction ont été déterminés en fonction de la matière sèche initiale, selon l'équation suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = \{ \text{PES} / \text{PPI} \} \times 100$$

PES : poids de l'extrait sec (g).

PPI : poids de la poudre initiale (g).

2.1.2. Analyse physico-chimique et nutritionnelle du jus d'agrumes

2.1.2.1. Mesure des solides totaux, du pH et de l'acidité

Le jus d'agrumes a été analysé pour les solides solubles totaux (TSS) à l'aide d'un réfractomètre numérique (modèle : Abbe Mark II, Cambridge Instrument, INC. Buffalo, NY, USA). L'appareil a été normalisé en utilisant de l'eau purifiée avant de prendre les mesures. L'acidité titrable (AT) a été déterminée en pourcentage à l'aide d'une méthode décrite précédemment (El-dardiry, 2017). Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Modèle : pH-mètre 240, Corning Scientific Products, NY, USA).

2.1.2.2. Analyse nutritionnelle du jus d'agrumes

2.1.2.2.1. Les macroéléments

❖ Les glucides

2 ml de jus ont été centrifugés à 10.000 rpm pendant 5 min à 4°C. Les échantillons ont été filtrés sur un filtre en nylon de 0,45 µm et analysés par HPLC en utilisant une colonne Tracer Carbohydrate 250 mm × 4,5 mm, 5 µm et une phase mobile composée d'acétonitrile : eau (75:25) à un débit de 1 ml·min⁻¹. Les sucres fructose, glucose et saccharose ont été identifiés en comparant leur temps de rétention avec un standard et quantifiés à l'aide d'une courbe d'étalonnage externe.

❖ Les protéines

Les protéines ont été déterminées par la méthode de Micro-Kjeldahl (Yenrina, 2015). Peser l'échantillon qui a été purifié jusqu'à 0,2 ml dans le ballon de Kjeldhal. Ajouter 0,7 gramme de catalyseur N (250 grammes de Na₂SO₄ + 5 grammes de CuSO₄ + 0,7 grammes de sélénium / TiO₂), puis ajouter 4 ml de H₂SO₄ concentré.

Destruction dans des armoires à acide jusqu'à ce que la couleur devienne vert clair, refroidir puis ajouter 10 ml d'eau distillée. Puis distiller en ajoutant 20 ml de NaOH - Tio (NaOH 40% + Na₂S₂O₃ 5%) et le distillat est accommodé en utilisant 4% de H₃BO₃ qui a donné l'indicateur, suivre la distillation ; le volume atteint 60 ml (la couleur passe du rouge au bleu). Lorsque le volume atteint 60 ml, arrêter la distillation puis le distillat est titré en utilisant la solution standard de HCl 0.02 N jusqu'au point final du titrage (la couleur change du bleu au rose). Point final de la titration (la couleur passe du bleu au rose). Notez le volume de titrage obtenu puis calculer la teneur en protéines à l'aide de la formule :

$$\% \text{ Protéines} = \% \text{ N} \times \text{facteur de conversion}$$

NB :

$$\% \text{ N} = \text{Azote}$$

$$\text{Facteur de conversion} = 6,25$$

❖ Les lipides

La graisse a été analysée par la méthode soxhlet. Nous avons préparé 5 ml d'échantillon, puis nous avons mis l'échantillon dans des enveloppes de papier filtre et nous l'avons attaché avec un fil papier filtre ; le sécher dans un four à 80°C pendant 15 minutes ; refroidir et mettre dans un soxhlet ; verser dans une quantité suffisante d'éther de pétrole ; chauffer avec un réchauffeur électrique à 8 degrés pendant 3 heures ; refroidir avec le dessiccateur et peser la graisse (Maligan, 2014).

❖ Les Fibres

Cela a été déterminé par la méthode de Maligan, (2014). Cinq grammes (5 g) de chaque échantillon ont été dégraissés (comme dans la détermination des graisses) et l'échantillon dégraissé a bouilli dans 200 ml d'une solution de H₂SO₄ à 1,25% au reflux pendant 30 minutes. Après cela, l'échantillon a été lavé avec suffisamment d'eau chaude en utilisant un tissu de mousseline double pour piéger les particules.

L'échantillon lavé a été soigneusement transféré dans un creuset en porcelaine pesé et séché pendant une heure sur un four réglé à 105 ° C, refroidi dans un dessiccateur et pesé de nouveau. La perte de poids après séchage a été calculée en tant que teneur en fibres brutes et exprimée en pourcentage du poids de l'échantillon.

2.1.2.2.2. Les microéléments

❖ Analyse de la vitamine C (acide ascorbique total)

La vitamine C totale (acide ascorbique et acide déhydroascorbique) a été déterminée par HPLC. La procédure utilisée était la réduction de l'acide déhydroascorbique en acide ascorbique, en utilisant le DL-dithiothréitol (DTT) comme réactif réducteur (Dhuique et *al.*, 2005 ; Bermejo et Cano, 2012). Brièvement, 1 ml de jus filtré a été mélangé à 1 ml de solution d'acide métaphosphorique à 5%, puis l'échantillon a été centrifugé à 4°C pendant 5 min à 10.000 rpm.

Un millilitre de surnageant a été mélangé à 200 μL de DTT (20 mg/ml) et laissé réagir pendant 2 h dans l'obscurité, puis filtré sur un filtre de 0,45 μm et utilisé pour la détermination de l'acide ascorbique total par HPLC. Une colonne C18 en phase inverse a été utilisée avec une phase mobile isocratique de méthanol : 0,6% d'acide acétique (5:95).

Le temps d'exécution total était de 10 minutes à 1 ml/min, et le volume d'injection était de 5 μL . Le temps de rétention de l'acide ascorbique était de 3,8 min, et la quantification de l'acide ascorbique a été réalisée à 245 nm par étalonnage standard externe. L'acide L-ascorbique et le DTT ont été obtenus respectivement auprès de Sigma. Tous les solvants utilisés étaient de qualité HPLC et de l'eau ultrapure a été utilisée.

❖ Détermination des minéraux

Le sodium, le potassium, le magnésium et le calcium dans les jus ont été analysés par spectroscopie d'émission atomique à flamme (FAES) avec un photomètre à flamme (Pye Unicam SP 2900, Cambridge, UK) aux longueurs d'onde de $\lambda = 589,0$ et $\lambda = 766,5$ nm, respectivement. Les mesures des éléments (Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Se) ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre d'émission optique à plasma à couplage inductif.

❖ Principe

Les conditions opérationnelles, les lignes d'analyse et les longueurs d'onde des éléments étaient les suivantes : Puissance du générateur RF, 1200 W ; fréquence du générateur RF, 40,68 MHz ; débit du gaz réfrigérant, 12 L min⁻¹ ; débit du gaz porteur, 0,5 L min⁻¹ ; débit du gaz auxiliaire, 0,6 L min⁻¹ maximum. Temps d'intégration, 15 s ; taux de pompage, injection de l'échantillon 19 rpm en mode normal (1 mL min⁻¹) ; et injection du fluide de rinçage 78 rpm en mode rapide (4 mL min⁻¹) ; configuration de visualisation, axiale ; répétitions, 3 ; temps de rinçage, 30 s ; longueurs d'onde des lignes d'absorption (résonance) (nm), 422,7 pour le calcium ; 285,2 pour le magnésium ; 238,2 pour le fer ; 206,2 pour le zinc ; 327,4 pour le cuivre ; 257,6 pour le manganèse ; et 196,0 pour le sélénium. La teneur en

phosphore a été déterminée par spectrométrie à 400 nm à l'aide d'un appareil Helios Alpha UV-VIS (Spectronic Unicam, Leeds, UK), conformément à l'AOAC (AOAC, 2012).

Toutes les solutions d'échantillons ont été préparées en utilisant une quantité d'étalon multi-élémentaire correspondant aux valeurs moyennes de la courbe d'étalonnage. Les solutions ont été analysées dans des conditions optimisées.

2.2. Etude phytochimique des extraits

2.2.1. Analyses quantitatives

2.2.1.1. Dosage des polyphénols totaux

La méthode de Folin-Ciocalteu a été employée afin d'évaluer les concentrations de polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques des variétés de *Citrus* (Ordoñez *et al.*, 2006).

❖ Principe

Il s'agit d'une méthode basée sur l'utilisation du réactif de Folin Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) se caractérisant par sa couleur jaune. Elle repose sur la variation des caractéristiques colimétriques de ce réactif lorsqu'il est complexé avec certains types de molécules, principalement les polyphénols.

Lors de l'oxydation des phénols, le réactif subit une réduction pour former un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), d'une coloration bleu foncé.

La coloration générée, avec une longueur d'onde d'absorption maximale située entre 725 et 765 nm, est directement liée à la concentration de polyphénols dans les extraits (Georgé *et al.*, 2005).

❖ Mode opératoire

Brièvement, 500 µl de chaque extrait à diverses concentrations sont mélangés avec 2.5 ml de réactifs Folin-Ciocalteu 0.2 N et laisser reposer 5 min, puis on ajoute 2.0 ml de la solution de carbonate de sodium à 10 % (75 g.l⁻¹ d'eau distillée). Après une incubation de 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm, et les expériences sont répétées à trois fois (Ordoñez *et al.*, 2006).

❖ Expression des résultats

Le taux total de phénols contenu dans nos extraits a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique en tant standard de référence (50 à 250 mg.ml⁻¹). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait en poudre (mg Eq AG/ g).

2.2.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La mesure des flavonoïdes a été effectuée à l'aide d'une méthode colorimétrique modifiée par Ordoñez et *al.*, (2006).

❖ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, capable de former un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium en présence du groupement CO associé. Les flavonoïdes forment des complexes de couleur jaunâtre en chélatant les métaux tels que le fer et l'aluminium. Cela signifie que l'aluminium (Al) perd deux électrons afin de se lier à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique, agissant ainsi comme un donneur d'électrons (Zhou et *al.*, 2009).

❖ Mode opératoire

Un volume de 500 µl d'une solution méthanolique d'AlCl₃ à 2 % a été incorporé à 500 µl de l'échantillon. Suite à une incubation d'une heure à température ambiante, à l'abri de la lumière, l'absorbance a été déterminée à 420 nm (Ordoñez et *al.*, 2006).

La courbe d'étalonnage est réalisée de la même manière que précédemment, en utilisant une série de concentrations de solution de quercétine préparée dans le méthanol.

❖ Expression des résultats

La teneur totale en flavonoïdes des extraits de plantes a été exprimée en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de extraits de plante (mg Eq Q/ g).

Les différentes expériences ont été réalisées trois fois de façon indépendante.

2.2.1.3. Identification quantitative des flavonoïdes par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

❖ Principe

C'est une méthode d'analyse par un chromatographe équipé d'un détecteur UV qui consiste à séparer des molécules à travers une phase stationnaire spécifique. Suivant leur nature, les molécules interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. Le système chromatographique est traversé par la phase mobile, qui est transportée par une pompe à haute pression. Le mélange à examiner est introduit et ensuite transporté à travers le dispositif chromatographique. Dans ce contexte, les composés dissous se distribuent en fonction de leur affinité entre la phase mobile et la phase fixe.

Mode opératoire

L'analyse chromatographie liquide haute performance (HPLC) est effectuée en utilisant un chromatographe en phase liquide Agilent 1100 couplé à un détecteur UV. La phase stationnaire utilisée est Hypersil BDS-C18 (5 μ m, 250 $\times$ 4.6 mm) thermostaté à 30 °C. L'absorbance UV est fixée à 370 nm. L'injecteur automatique est utilisé en boucle pleine de 20 μ l. La phase mobile est composée de la manière suivante : l'acide acétique (solvant A) et de méthanol (solvant B). Le débit a été maintenu à 1 ml/min.

Le programme de gradient était le suivant : 0 min, 30% B ; 15 min, 30% B ; 20 min, 40% B ; 30 min, 45% B ; 50 min, 60% B ; 60 min, 80% B ; 65 min, 80% B. Le volume d'injection a été de 20 μ l et les pics ont été surveillés dans la gamme de longueur d'onde de 278-340 nm. Les échantillons ont été filtrés à travers un filtre de 0.45 μ m avant l'injection. La phase mobile est composée de la manière suivante : l'acide acétique (solvant A) et le méthanol (solvant B). Le débit a été maintenu à 1 ml/min. Le programme de gradient était comme suit : à 0 min, 30% B ; à 15 min, 30% B ; à 20 min, 40% B ; à 30 min, 45% B ; à 50 min, 60% B ; à

60 min, 80% B ; et enfin, à 65 min également, on maintient le 80% B. Le volume injecté était de 20 µl et les pics ont été surveillés dans la gamme de longueur d'onde de 278-340 nm. Les échantillons ont subi une filtration via un filtre de 0.45 µm avant leur injection. L'identification des pics a été effectuée en fonction des temps de rétention correspondants aux standards utilisés.

Un passeur automatique d'échantillons à température contrôlée (échantillonneur automatique AS 100) est utilisé. Les flavonoïdes sont identifiés par comparaison de leurs temps de rétention par rapport aux standards correspondant, acide férulique, p-coumarique, hespéridine, naringinine, lutéoline, quercétine et acide caféique, et par leurs spectres UV obtenus avec le détecteur (Liang *et al.*, 2009).

2.3. Estimation des activités biologiques des extraits méthanoliques et jus des *Citrus* :

2.3.1. Evaluation *in vitro* des activités biologiques

2.3.1.1. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Effectivement, la plupart des antioxydants synthétiques ou naturels contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leur constitution et on attribue partiellement les propriétés antioxydantes à la capacité de ces composés naturels à capturer les radicaux libres comme les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes (O₂•) (Bartosz, 2003).

Plusieurs techniques d'évaluation du pouvoir anti-oxydant ont été élaborées récemment. On fait la distinction entre les évaluations réalisées sur des matrices biologiques (*in vivo*) et celles effectuées sur des matrices alimentaires (*in vitro*). Différentes méthodes ont été élaborées pour évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, des extraits naturels.

Les tests d'évaluation de l'activité antioxydante reposent sur l'un ou l'autre des deux mécanismes, en fonction de la complexité des processus d'oxydation, que ce soit par transfert d'atome d'hydrogène ou par transfert d'électron. En raison des nombreux facteurs impliqués, tels que les propriétés physico-chimiques des molécules, il n'existe pas de méthode unique capable de représenter de manière complète le profil antioxydant d'un échantillon.

C'est pourquoi, il est nécessaire de réaliser différents tests pour mesurer le pouvoir antioxydant. Par exemples, il existe des tests qui évaluent le pouvoir réducteur comme le test FRAP « Ferric Reducing Antioxydant Power » et les tests qui examinent le pouvoir anti

radicalaire par piégeage des radicaux libres tel que le test DPPH qui utilise le 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle sous sa forme radicalaire (DPPH•), ou encore le test ABTS qui utilise le radical cationique ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), le piégeage du radical hydroxyle (•OH), le piégeage de l'anion superoxyde (•O²⁻), le piégeage d'oxygène singulet (¹O₂), le blanchiment du β-carotène et le pouvoir chélateur des ions ferriques.

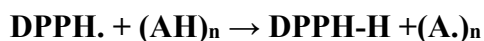
D'après Prior et *al.* (2005) ainsi que Chaouche Tarik (2014), il est recommandé d'effectuer au moins deux tests pour valider l'activité antioxydante d'un échantillon. Pour l'analyse des extraits végétaux et des jus de fruits, les techniques DPPH•, le blanchiment du β-carotène et le FRAP sont fréquemment employées.

2.3.1.1.1. Test du DPPH

En raison de sa simplicité d'analyse et de sa stabilité en tant que radical libre, le DPPH• est généralement sélectionné comme substrat pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante. On a évalué l'activité antioxydante de divers extraits méthanoliques et des jus des agrumes en mesurant leur capacité à piéger le radical DPPH, conformément à la méthode décrite par Tepe et *al.* (2006), avec quelques modifications

❖ Principe

Le DPPH, ou Diphényle picryl-hydrazyle, est un radical libre stable qui présente une couleur violette en solution et montre une absorbance spécifique à 517 nm. La couleur disparaît rapidement lors de la transformation du DPPH en diphényle picryl-hydrazine, un composé possédant des propriétés antiradicalaires, ce qui entraîne une décoloration (l'intensité de la coloration étant inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). La réaction peut se résumer comme suit :



Lorsque (AH)_n représente un composé ayant la capacité de transférer un atome d'hydrogène au radical DPPH (violet) afin de le convertir en Diphényle picryl hydrazine (jaune) (Figure 12). Cette méthode permet d'observer la dynamique de décoloration à 517 nm.

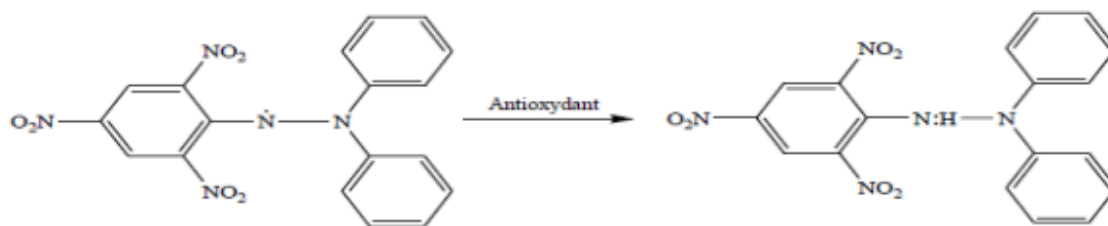


Figure 12. Réduction du radical libre DPPH en DPPHH (Molyneux, 2004).

❖ Mode opératoire

Pour préparer la solution de DPPH avec une concentration de 0,004%. 250 µL de différentes concentrations d'extraits (25, 50, 100 et 200 mg.ml⁻¹), ou du standard (BHT) ont été incorporés à 1 ml de la solution DPPH préparée. Ensuite, le tout est laissé à l'obscurité pendant 30 minutes. On évalue l'absorbance à 517 nm en comparaison avec le blanc.

❖ Expression des résultats

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité Anti-radicalaire} = [(A1 - A2) / A1] \times 100$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait ou standard.

Pour chaque extrait testé, les résultats ont été présentés en comparaison avec ceux obtenus à partir du standard (BHT, antioxydant de référence).

L'efficacité du piégeage du radical DPPH est déterminée par l'IC₅₀, qui représente la concentration de l'extrait végétal capable de réduire le radical DPPH• de 50 %. Cette valeur est calculée à l'aide de la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = *f* (concentrations)] (Annexe I).

L'expérience a été faite en triple, les résultats ont été présentés par la moyenne avec son écart-type.

2.3.1.1.2. Méthode de blanchiment de la β -carotène

L'évaluation du β -carotène se fait selon la méthode d'Anusuya et *al.* (2012).

❖ Principe

Au cours de cette expérience, la capacité antioxydante est évaluée en quantifiant l'effet inhibiteur sur la dégradation oxydative du β -carotène, se manifestant par sa décoloration. Cette dégradation est provoquée par les produits d'oxydation de l'acide linoléique, lesquels agissent de manière simultanée sur le β -carotène, entraînant ainsi son blanchiment et la perte de sa couleur orange (Haddad et *al.*, 2011).

Une quantité de 0.2 mg du β -carotène est dissout dans 0.5 ml de chloroforme. La solution obtenue est ajoutée à un ballon renfermant 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme sous vide, on ajoute 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène, en agitant vigoureusement pendant 30 minutes. On transfère 4 ml de l'émulsion obtenue dans des tubes contenant chacun 200 μ l d'extrait méthanolique, ayant une concentration de 200 μ g/ml. Cette émulsion a été incubée pendant 120 minutes à une température de 50°C.

La même procédure a été appliquée en utilisant l'antioxydant synthétique BHT comme témoin positif, ainsi qu'un tube blanc contenant du méthanol à la place des extraits. Suite à la période d'incubation, on procède à la lecture de l'absorbance à 470 nm pour les extraits, tandis que celle du BHT est mesurée immédiatement.

❖ Expression des résultats

Le taux d'activité antioxydante a été déterminé en se basant sur l'équation ci-dessous :

$$AA\% = 100 \times [1 - (A_0 - A_t) / A_{00} - A_{0t}]$$

AA%: pourcentage de l'activité antioxydante.

A₀: l'absorbance au début de la réaction.

A_t: l'absorbance après 2h, avec extrait ou le BHT.

A_{00} : l'absorbance au début de la réaction du contrôle négatif (200 μ l de l'éthanol et 2.5 ml de l'émulsion).

A_{0t} : l'absorbance après 2h du contrôle négatif.

2.3.1.1.3. Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test de FRAP repose sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en un fer ferreux (Fe^{2+}) par un antioxydant (AH), comme illustré dans la Figure 13. Au cours de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleu vert intense apparaît très rapidement (Amarowicz *et al.*, 2010).

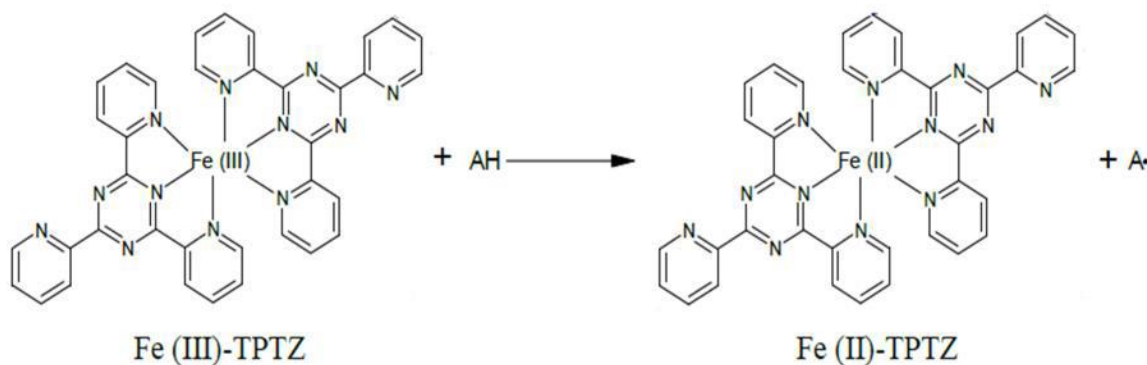


Figure 13. Réduction du fer ferrique en fer ferreux par un antioxydant (AH).

Le potentiel réducteur du fer (Fe^{3+}) présent dans les extraits est établi conformément à la méthode décrite par Oyaizu (1986) et rapportée par Rufián et Delgado (2009).

Un millilitre de l'extrait à diverses concentrations (variant de 25 à 200 μ g/ml) a été mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH 6.6) et 2.5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le mélange est soumis à une incubation à 50°C dans un bain-marie pendant 20 min. 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. Une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 min a été effectuée, 2.5 ml de surnageant ont été mélangés à 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution de chlorure de fer ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 0.1%. L'absorbance a été déterminée à une

longueur d'onde de 700 nm, en utilisant un blanc élaboré dans des conditions identiques, où l'extrait a été remplacé par de l'eau distillée.

Dans cette expérience, l'acide ascorbique est utilisé en tant que témoin positif, aux concentrations sélectionnées et dans des conditions expérimentales identiques. Pour analyser les résultats obtenus, la méthode la plus fréquemment appliquée par la plupart des auteurs consiste à représenter graphiquement les valeurs d'absorbance en fonction des diverses concentrations utilisées. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

2.3.1.2. Etude de l'activité antibactérienne

La capacité d'une substance à exercer une activité antimicrobienne in vitro peut être démontrée à l'aide d'un large éventail de techniques classiques, que ce soit en milieu solide ou liquide. Notre travail consiste à étudier l'activité antimicrobienne des extraits des feuilles et du jus des agrumes (*Citrus*), en utilisant la méthode de diffusion sur disque de papier afin de mesurer le diamètre d'inhibition et de calculer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

2.3.1.2.1. Repiquage et revivification des bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes employées sont présentées en culture pure sous forme congelée. Elles sont réactivées et préservées par le biais d'un repiquage, qui consiste à introduire 1 ml d'inoculum dans 10 ml de bouillon nutritif, puis à les incuber à une température de 37 °C pendant une durée de 72 heures. À partir du milieu préalablement enrichi, prélevez une goutte à l'aide d'une anse en platine. Ensuite, en utilisant la technique des stries, on l'étale sur le milieu sélectif gélosé coulé dans chaque boîte de pétri dédiée à chaque bactérie pathogène. On laisse ensuite incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures (Madhuri et al., 2014).

2.3.1.2.2. Préparation des suspensions des bactéries pathogènes

Des stries de souches microbiennes sont inoculées dans un milieu nutritif de gélose, puis incubées pendant 18 heures à une température de 37°C, certaines colonies bien isolées sont prélevées à l'aide d'une anse de platine. Ensuite, on décharge l'anse de platine dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % et on homogénéise la suspension bactérienne à l'aide

d'un vortex ensuite on fait des dilutions afin de standardiser la suspension bactérienne. L'inoculum est ajusté à 0.5 Mc Farland correspondant à une densité optique de (0.08 à 0.10) à 625 nm. La concentration finale de l'inoculum est de 10^7 UFC/ml (Zarai *et al.*, 2011).

2.3.1.2.3. Effet antibactérien des extraits hydro-alcooliques et des jus

Les jus d'agrumes sont solubilisés dans l'eau distillée stérile, tandis que les extraits hydro-alcooliques sont dissous dans DMSO. Un disque de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre préalablement imbibé par 30µl d'extrait (préparé à la concentration souhaitée), est placé sur la surface de la géloseensemencée dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre contenant le milieu Mueller Hinton agar et inoculées avec la suspension bactérienne pathogène (Bayoub *et al.*, 2010 ; Madhuri *et al.*, 2014 ; Kouadio *et al.*, 2015).

Ensuite, les boîtes sont placées en incubation pendant 24 heures à une température de 37°C. Chaque test est réalisé en trois répétitions. Suite à l'incubation, l'absence de développement microbien se révèle par la formation d'un halo translucide autour du disque, dont le diamètre est mesuré en millimètres.

❖ Test témoin

Le but de l'essai témoin est de s'assurer que l'arrêt de la croissance bactérienne est exclusivement attribué à la substance analysée (extrait méthanolique). On doit appliquer sur la gélose Mueller Hinton des disques de papier Whatman imbibés de méthanol (le solvant utilisé pour l'extraction) en tant que témoin négatif.

2.3.1.2.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les échantillons présentant une activité antibactérienne positive sont sélectionnés pour être soumis à une étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en utilisant la technique de diffusion sur gélose. La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'un extrait par rapport à une souche spécifique est définie comme la plus faible concentration à laquelle aucun signe de croissance bactérienne n'est observé. (Teresa Fera *et al.*, 1998 ; Perveen *et al.*, 2012).

La CMI a été déterminée en utilisant la méthode de microdilution en milieu liquide, avec des dilutions en série de 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16., dans cette technique, 100 µl de chaque suspension bactérienne ont été inoculés dans les puits d'une microplaque à 96 puits contenant déjà 100 µl de l'échantillon dilué de manière géométrique avec un facteur de dilution de 2.

La concentration finale de l'inoculum est de 5×10^5 UFC/ml, tandis que la concentration maximale des échantillons testés est de 1 mg/ml. Des puits contenant uniquement du milieu de culture ou du milieuensemencé avec la souche testée, mais sans l'échantillon, ont été employés comme groupe témoin. Les microplaques ont été mises en incubation à une température de 37°C. Après une période d'incubation de 24 heures, la concentration minimale capable d'inhiber complètement le germe étudié est définie comme la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

2.3.1.2.5. Test de sensibilité aux antibiotiques : Antibiogramme

L'antibiogramme nécessite de disposer des disques chargés d'antibiotiques (10 µg/ml) sur le milieu Agar Mueller Hinton, qui a été préalablement inoculé uniformément avec la culture des souches pathogènes à étudier (Bonnet et *al.*, 2013).

La sensibilité des bactéries pathogènes aux antibiotiques est évaluée de la même manière que celle utilisée avec les disques de papier imprégnés d'extraits. Les antibiotiques utilisés sont les suivants : Gentamycine « GN » (25 µg), Oxacilline « OX » (1 µg), Pénicilline « P » (10µg).

2.3.2. Activités biologiques (*in vivo*)

2.3.2.1. Etude de la toxicité aiguë

L'intégration d'un composé en pharmacologie ne se justifie pas seulement par son efficacité thérapeutique, sans prendre en considération sa toxicité à la dose active. Il est donc indispensable d'établir une évaluation du rapport bénéfice/risque dans l'indication thérapeutique de chaque substance.

Cela est effectué à travers deux types d'étude, d'une part, l'évaluation de l'efficacité chez les animaux (étude expérimentale) et chez les humains (effets bénéfiques), d'autre part, l'étude de la sécurité chez les animaux (toxicologie) et chez les humains (effets indésirables). (Singh et *al.*, 2010 ; Abirami, et *al.*, 2015).

Avant de procéder à d'autres analyses biologiques *in vivo*, nous avons jugé la détermination de la dose létale 50 (DL50) par voie orale.

❖ Principe

Elle vise à établir la dose létale (DL50). En effet, la DL50 est un indicateur du potentiel de toxicité à court terme (toxicité aiguë) d'une substance, elle s'exprime en milligrammes de substance active par kilogramme d'animal. La DL50 représente la quantité d'une substance susceptible d'entraîner la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions expérimentales spécifiques.

Cette dose permet d'observer les symptômes de l'intoxication et de comparer la toxicité potentielle des diverses substances. En règle générale, une valeur de DL50 plus faible indique une toxicité accrue de la substance. Inversement, il est également vrai que plus la DL50 est élevée, plus la toxicité est faible (Arbo et *al.*, 2008 ; Vijayalakshmi 2016).

❖ Mode opératoire

La toxicité aiguë des extraits des cultivars de *Citrus* a été évaluée chez des rats ayant été préalablement soumis à un jeûne de 24 heures. Le test de toxicité est effectué en suivant la méthode de Nene et *al.* (2008), avec les modifications suivantes : les animaux ont été randomisés par lot de cinq rats. Des quantités croissantes de chaque extrait méthanolique ainsi que de jus d'agrumes (100, 250, 500 et 800 mg/kg de poids corporel) ont été préparées dans l'eau distillée et administrées aux rats par gavage (*per os*) avec une sonde à gavage (0.5ml/kg).

Le lot témoin a reçu un même volume et de la même manière de l'eau distillée. Après l'administration, les lots de rats ont été mis en observation individuelle afin de détecter les différentes perturbations comportementales et physiologiques des animaux en comparaison avec celui du groupe non traité, (agitation, convulsions, anorexie, paralysie partielle, asthénie, diarrhée et mort) pendant les 4 heures qui ont suivi les traitements puis régulièrement durant les premières 24 et 48 h et quotidiennement par la suite pendant 14 jours pour permettre d'enregistrer les effets tardifs y compris le nombre de mortalité.

2.3.2.2. Etude de l'activité hypocholestérolémiant des extrais hydro-alcooliques et jus des différentes variétés des *Citrus*

En parallèle, dans le deuxième volet de cette thèse, nous avons travaillé pendant douze (12) semaines sur le modèle des rats rendus hypercholestérolémiques, par un apport alimentaire supplémenté avec 1% de cholestérol alimentaire et 0,5% d'acide cholique (favorise l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire).

Tous les rats avaient un accès libre à la nourriture et l'eau *ad libitum* pendant la période d'expérimentation. Les rats ont été répartis au hasard en quinze groupes comprenant chacun cinq rats (Annexe II) ; Le groupe témoin normal a reçu de l'eau stérile avec un régime alimentaire normal, le groupe témoin positif a reçu 0,5 ml d'eau stérile avec un régime riche en cholestérol (1%), les animaux du groupe d'essai ont été divisés en douze (12) groupes comme le montre la figure 14.

Les animaux du groupe standard ont reçu un régime riche en cholestérol et de l'atorvastatine à la dose de 10 ml / kg (Khera et Bhatia, 2012). Les rats des groupes traités sont reçus en même temps les extraits des plantes par voie orale une fois par jour. Le protocole bien défini est illustré dans la Figure 14.

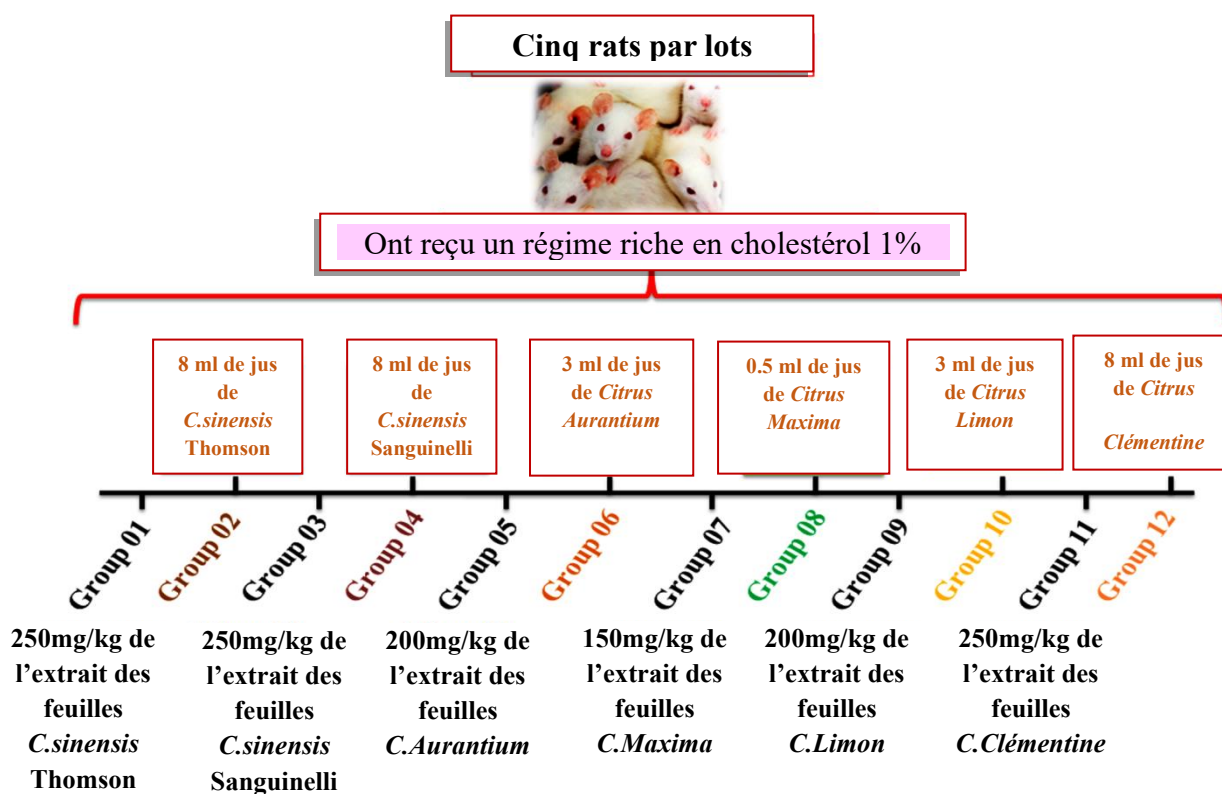


Figure 14. Protocole expérimental *in vivo* de l'activité hypocholestérolémiant

2.3.2.3. Etude du potentiel antidiabétique des extraits hydro-alcooliques et jus des différentes variétés des *Citrus*

❖ Induction d'un diabète expérimental

Pour évaluer l'activité antidiabétique des flavonoïdes des extraits hydro-alcooliques et jus des *Citrus*, l'induction d'un diabète expérimental est effectuée par une injection intrapéritonéale de 150 mg/kg d'alloxane monohydraté préparé dans une solution saline à 0,9%. Pour éviter une hypoglycémie excessive, les rats traités à l'alloxane ont reçu du glucose à 5% pendant 24 h au lieu d'une simple eau (Menichini et *al.*, 2011).

Installant ainsi un diabète toxique dit insulinoпрive ou diabète alloxanique (Downs, 2015). En effet, l'administration de cette drogue, provoque une nécrose sélective des cellules β du pancréas et ainsi une déficience insulinique chronique (Tomita, 2016). Quatre jours après l'injection, la glycémie des animaux est effectuée et les rats dont le glucose sanguin est supérieur ou égal à 2 g/l sont considérés diabétiques.

Pour évaluer l'effet antidiabétique des variétés *Citrus*, un total de 70 rats répartis en 14 lots de 5 individus chacun sont utilisés (Annexe II). Le groupe témoin normal a reçu de l'eau stérile avec un régime alimentaire normal, les animaux du groupe témoin diabétique positif ont reçu le médicament de référence glucophage (2,5 mg/kg),

Les animaux du groupe d'essai ont été divisés en douze (12) groupes. Le protocole bien défini est illustré dans la Figure 15.

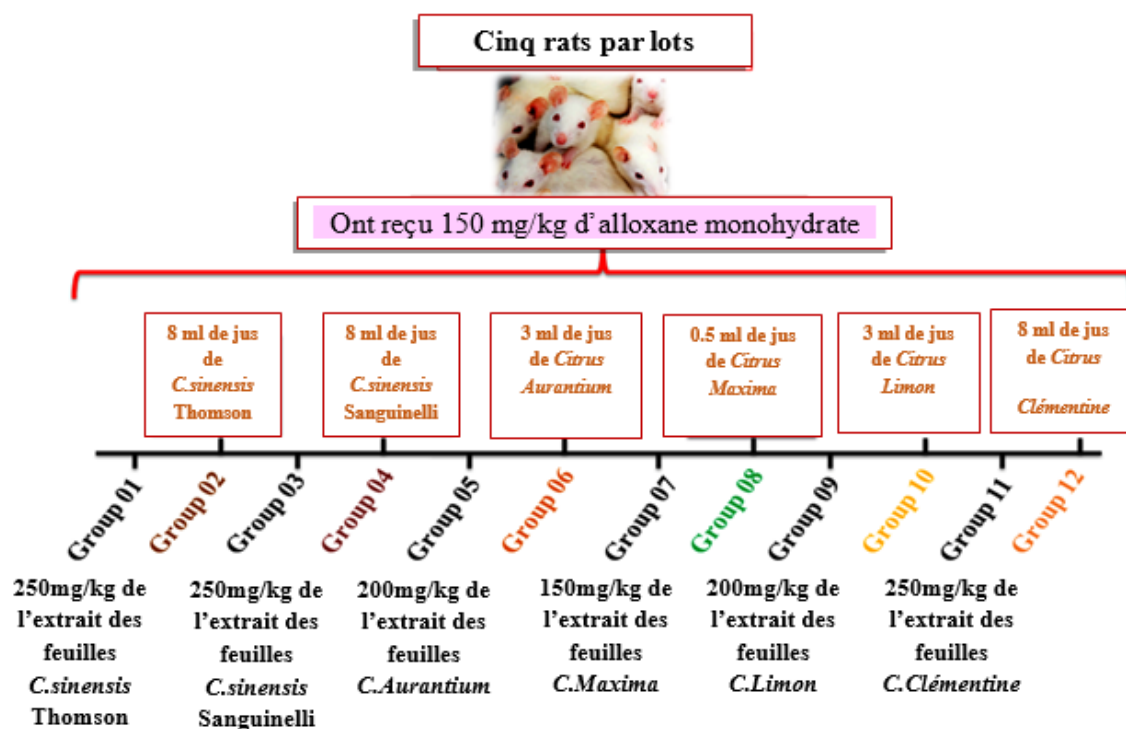


Figure 15. Protocole expérimental *in vivo* de l'activité antidiabétique

❖ Test de la Tolérance au Glucose (OGTT) chez les rats diabétiques

L'étude consiste à déterminer la dose la plus efficace des différents extraits flavonoïques à savoir, *Citrus sinensis*, *Citrus Clementina*, *Citrus Limon*, *Citrus aurantium* et *Citrus maxima*, suivant la méthode décrite par Liu et *al.* (2016).

Afin de vérifier l'efficacité de l'extrait hydro-alcoolique et jus des *Citrus* sur la régulation et l'utilisation périphérique du glucose, un test de tolérance au glucose est réalisé à J27 chez les rats diabétiques traités ou non, par une injection intra péritonéale de 4g/kg PC de glucose. La glycémie est suivie pendant 2 heures à différents temps (0, 30, 60 et 120 min). Le taux du glucose sanguin est mesuré tels que décrit précédemment.

2.3.2.4. Analyse des paramètres biochimiques

2.3.2.4.1. Prélèvement du sang

À J₉₀, après un jeûne de 12 heures, des prélèvements sanguins ont été effectués sur les rats de chaque groupe. Ces prélèvements ont été réalisés dans des tubes héparine afin de mesurer les paramètres lipidiques suivants : : total cholestérol (TC), triglycérides (TG), lipoprotéines de basse densité (LDL), lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et lipoprotéine de haute densité (HDL) (Annexe II).

La glycémie est déterminée à J+7, J+14, J+28 sur un échantillon de sang total de la veine caudale, à l'aide d'un glucomètre (*On-Call Extra ISO 15197*).

Les différents organes des rats diabétiques (pancréas) et ceux des rats dyslipidémiques (foie) sont soigneusement prélevés (Annexe II), rincés avec une solution fraîche de NaCl à 0,9 % (P/V), séchés, pesés et conservés à -70°C. À partir de ces organes, des fragments sont prélevés pour l'étude histologique, ensuite fixés dans du formol tamponné à 10% (pH=7) (P/V), afin de garder l'échantillon dans un état proche du vivant.

2.3.2.4.2. Etude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées au laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique (Dr Bensaada Loubna), Khemis Miliana Ain defla. D'après Martoja, (1967) la technique utilisée comporte les étapes suivantes :

✓ **Fixation**

Son objectif est d'immobiliser les structures cellulaires tout en préservant leur morphologie, et le temps de fixation est crucial pour la réussite de la technique histologique. Les foies sont rapidement prélevés, rincés avec de l'eau physiologique froide puis fixés dans une solution de formol à 10% qui se polymérise avec les polypeptides entraînant leur insolubilité.

✓ **Déshydratation**

Étant donné que la paraffine n'est pas miscible avec l'eau, les échantillons doivent d'abord être totalement déshydratés avant d'être inclus dans la paraffine. De plus, la paraffine n'est pas soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, ce qui nécessite une substitution par le xylène.

La déshydratation est réalisée à l'aide d'un automate qui plonge les échantillons dans des bains d'éthanol à concentrations croissantes (70, 90 et 100 %), suivis de bains de xylène, un agent éclaircissant qui confère au tissu une certaine transparence.

Le xylène s'évapore à partir des pièces anatomiques préalablement mises dans l'étuve à 60°C, pendant 12 heures. Le xylène, occupant la place de l'eau, va faciliter la pénétration de la paraffine.

✓ **Inclusion et réalisation des blocs**

Les échantillons sont immergés pendant 2 heures dans des bains de paraffine fondue à 60°C. Une fois imbibés de paraffine, ils sont placés dans des moules spécifiques, puis remplis de paraffine. Un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée permettent une solidification rapide (en 10 à 15 minutes) du bloc de paraffine contenant le tissu.

✓ **Confection des coupes**

Les blocs de paraffine sont d'abord taillés avant d'être coupés au microtome en tranches de 4 à 5 µm. Les rubans de paraffine ainsi obtenus sont ensuite déposés sur des lames porte-objet, dépliés, puis fixés à l'aide d'une solution gélatineuse chauffée à 40 °C. Enfin, les lames sont séchées dans une étuve à 100 °C pendant 1 heure.

✓ **Coloration au trichrome de masson**

Elle permet de mettre en évidence les structures tissulaires et cellulaires. Les coupes sont colorées par le trichrome de masson. Les coupes sont observées au microscope optique (Leica), équipé d'un système de caméra (Canon, Tokyo, Japon).

2.3.2.5. Etude *in vivo* de l'activité antioxydante

2.3.2.5.1. Préparation de l'homogénat après la pesée de l'échantillon

L'homogénat du foie est préparé par homogénéisation de 500 mg du foie dans 5 ml du tampon KCl (0,15 M) à 4 ° C. Les homogénats sont centrifugés à 3000 tpm pendant 10 min et les surnageants sont aliquotés puis utilisés pour les dosages biochimiques.

2.3.2.5.2. Evaluation de certains paramètres du statu redox

2.3.2.5.2.1. Détermination de la peroxydation lipidique

D'après Aldebasi et *al.* (2013), la détermination de la peroxydation lipidique dans le foie est évaluée par le dosage du malondialdéhyde (MDA).

✓ Principe

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit de peroxydation lipidique, au cours de laquelle sont formées d'autres entités radicalaires connues sous le nom TBARS (Figure 16). En milieu acide et chaud (pH 2 à 3, 95 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose qui peut être mesuré par spectrophotométrie.

L'évaluation globale de la peroxydation lipidique est réalisée en déterminant la quantité de lipides oxydés dans un échantillon à l'aide d'une courbe standardisée au MDA.

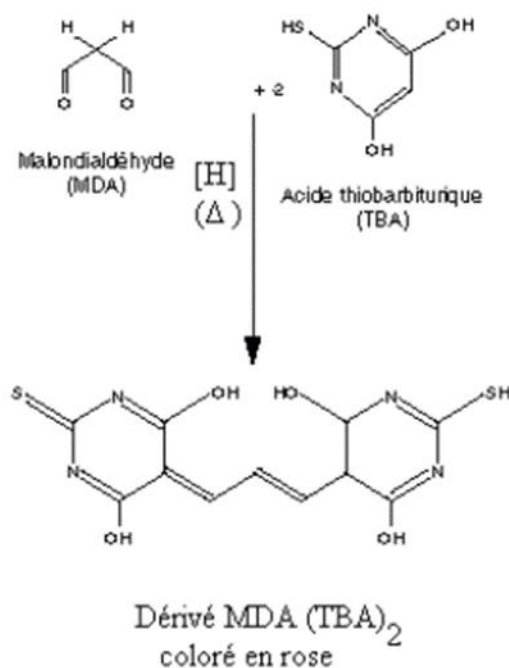


Figure 16. Principe de dosage du malondialdéhyde (Lefèvre et *al.*, 1998)

Pour doser le MDA, 0,5 g de foie sont additionnés dans 3 ml de solution tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4) contenant du KCl (1,15 M). Ce mélange est ensuite broyé par un homogénéiseur à 1200 tours/minute. 0,5 ml d'acide trichloracétique (20 %) et 1ml d'acide thiobarbiturique (TBA) (0,67 %) sont additionnés à 0,5 ml de l'homogénat récupéré. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol.

Suite à une centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/min, la densité optique est mesurée sur le surnageant à une longueur d'onde de 532 nm. La Concentration du MDA dans l'échantillon, exprimée en nmol/gramme de foie, est déduite à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le 1,1,3,3- tétraetoxypropane qui, une fois hydrolysé, génère le MDA.

2.3.2.5.2. Détermination des défenses antioxydantes enzymatiques

La concentration du superoxyde dismutase (SOD), de la glutathion peroxydase (GPx), la glutathion réductase et le statut antioxydant total (TAS) a été évaluée par spectrophotométrie UV/visibles (réactifs Randox).

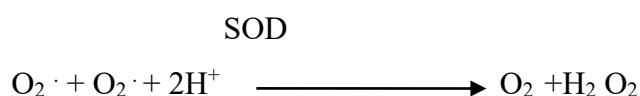
Dans le but de l'évaluation de l'activité antioxydante enzymatique, une fraction enzymatique est élaborée selon la méthode décrite par Iqbal et *al.* (2003). 2 g de foie sont coupés et homogénéisés dans 3 volumes de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) contenant du KCl (1,17%).

L'homogénat est centrifugé à 2000 tours/min pendant 15 min à 4 °C. Le surnageant obtenu est centrifugé à 9600 tours/min pendant 30 minutes à 4 °C et le surnageant final représente la fraction cytosolique utilisée pour l'évaluation de l'activité des différentes enzymes.

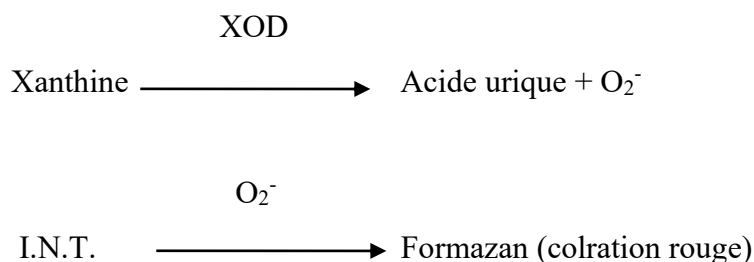
✓ La superoxyde dismutase (SOD)

Principe

Le rôle de la SOD est d'accélérer la dismutation du radical superoxyde toxique ($O_2^{\cdot-}$), produit durant les processus énergétiques oxydatifs, en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène moléculaire.



La méthode du dosage de la SOD utilise la xanthine et la xanthine oxydase (XOD) pour générer les radicaux superoxydes qui réagissent avec 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) pour former une structure de couleur rouge qui est le formazan. L'activité de la SOD est mesurée par le degré de l'inhibition de la réaction.



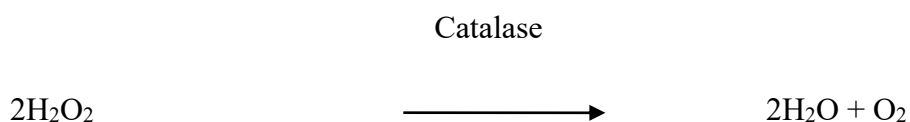
✓ Dosage de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx)

Le dosage de la GPx est basé sur une méthode colorimétrique enzymatique. La mesure de l'activité de la GSH-Px se fait par une méthode qui évalue indirectement cette activité grâce à une réaction associée à la glutathion réductase (GSSH-Red).

Après réduction de l'hydroxyperoxyde par la GSH-Px, le glutathion oxydé (GSSH) est recyclé en sa forme réduite grâce à l'action de la GSSH-Red et du NADPH. L'oxydation du NADPH en NADP^+ entraîne une diminution de l'absorbance à 340 nm. Cette diminution est directement proportionnelle à l'activité de la GSH-Px dans l'échantillon (Paglia et Valentine, 1967).

✓ Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

Le principe de l'activité enzymatique de CAT repose sur la disparition de H_2O_2 à 25°C en présence de la source enzymatique selon la réaction suivante.



Le dosage est réalisé dans un volume final de 2 ml constitué de 1ml de tampon phosphate (KH_2PO_4 0,1 M, pH 7,2), 0,975 ml de H_2O_2 fraîchement préparé (0,091 M) et de 0,025 ml de la fraction cytosolique (source d'enzyme).

La réaction est contrôlée par une lecture continue du changement d'absorbance à 240 nm chaque 30 secondes pendant 2 minutes. L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/mg de protéine tissulaire hépatique, selon la formule d'écrite par Dorey et *al.*, 1998.

$$\text{UI/mg} = \frac{2.3033}{T} \times \log \frac{A1}{A2}$$

Tel que :

A1 : Absorbance à la première minute

A2 : Absorbance à la deuxième minute

T : Intervalle de temps en minute.

3. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en triplicate, et les résultats sont exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 21.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, États-Unis). Les taux de signification ont été déterminés par ANOVA, suivie du test de LSD de Fisher pour les comparaisons multiples. Les valeurs de $P < 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

RESULTATS ET DISCUSSION

II. Résultats et discussion

1. Taux d'extraction

L'extraction méthanolique réalisée à partir des feuilles de *Citrus* (Figure 17) a démontré que le rendement en extrait sec diffère selon l'espèce et le type d'extrait.

Les résultats montrent que les rendements des extraits méthanoliques des feuilles de *C. maxima*, *C. aurantium* et *C. sinensis Sanguinelli* sont respectivement de 12.38 %, 11.46 % et 09.35%. Ces valeurs sont significativement ($P < 0,05$) supérieures à celles trouvées avec les extraits de *C. sinensis* et *C. clementine*.

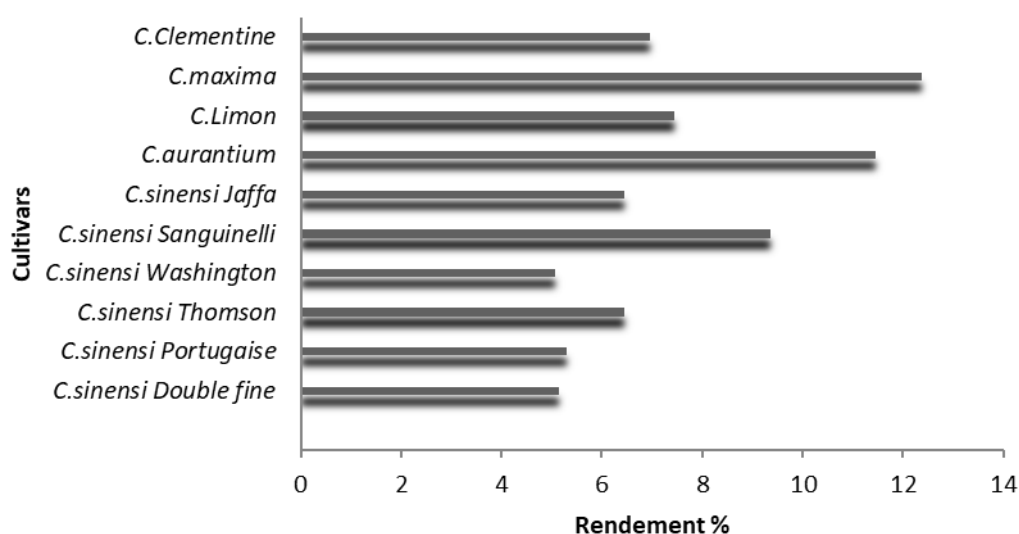


Figure 17 : Taux d'extraction par macération des feuilles des espèces de *Citrus*

Des études antérieures (Tawaha *et al.*, 2007 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Muthiah *et al.*, 2012) sont en accord avec nos résultats, en montrant que le rendement maximal a été approuvé par l'extraction hydro-méthanolique. Toutefois, d'autre études tendent à démontrer que le méthanol représente le meilleur solvant d'extraction en le comparant avec l'eau (Karimi *et al.*, 2010 ; Oskoueian *et al.*, 2011).

En générale, la variété des plantes explique la grande diversité des propriétés physico-chimiques qui impactent l'extraction des polyphénols (Koffi *et al.*, 2010 ; Mahmoudi *et al.*, 2013). Parmi ces facteurs, la solubilité des composés phénoliques est notamment influencée par la polarité du solvant utilisé.

Ainsi, il est particulièrement difficile de développer un procédé d'extraction qui soit adapté à l'extraction de tous les composés phénoliques présents dans la plante. (Jokic *et al.*, 2010).

Par conséquent, les variations des teneurs en phénols observées constatées pour une matière végétale donnée et une origine géographique identique, lorsqu'une extraction conventionnelle par solvant est réalisée avec différentes conditions opératoires, montrent que le rendement d'extraction des phénols dépend des conditions d'extraction utilisées. Cela souligne l'importance de standardiser le protocole d'extraction des composés bioactifs à partir des agro-ressources.

2. Analyse physico-chimique et nutritionnels du jus d'agrumes

2.1. Analyse physico-chimique

2.1.1. Rendement, pH, acidité titrable (TA) et teneur totale en solides solubles (TSS)

Les caractéristiques physico-chimiques telles que le rendement en jus, le pH, l'AT et les TSS du jus d'agrumes analysées sont illustrées dans le tableau 5. Les données ont montré une variation considérable des jus de différents agrumes.

Les mandarines (*C. clementine*) ont donné le meilleur rendement en jus (52.26 %) de tous les fruits, le jus de pamplemousse (*C. maxima*) a donné le rendement le plus faible (28.75 %), ces résultats sont similaires aux données rapportées par Ram *et al.* (2012). Les rendements trouvés avec les jus des oranges doux (*Citrus sinensis*) varient entre 42.61 % et 50.83 %.

Les résultats obtenus montrent que le pH et l'acidité titrable des jus des *C. sinensis* étudiées se situeraient entre les valeurs (3.22 ± 0.02 , 4.86 ± 0.06) de pH et (4.48 ± 0.19 EAC (g/l), 7.12 ± 0.02 EAC (g/L)) d'AT respectivement.

Les valeurs de pH sont plus basses dans les jus les plus acides comme *C. aurantium*, *C. maxima* et *C. Limon* dont les valeurs respectives sont de (2.89 ± 0.12) , (2.27 ± 0.04) et (3.00 ± 0.09) de pH et $(47.46 \pm 1.01 \text{EAC (g/l)})$, $(19.15 \pm 0.99 \text{ EAC (g/l)})$, $50.94 \pm 0.42 \text{ EAC (g/l)}$ d'AT.

Des résultats similaires ont été constaté pour le pH du jus de *C. maxima* qui est de 3.01–3.12 (Cheong et al., 2012), pour le jus de *C. sinensis*, le pH est de 3.52–4.56 (Akusu et al., 2016) et il varie entre 2.2 et 2.4 pour le jus de *C. limon* (Waghaye et al., 2019).

Concernant l'acidité titrable elle est comparable aux autres jus de fruits, mais, plus faible que le citron et l'orange, pour le jus de pamplemousse, elle est de $0.94 \pm 0,02 \text{ EAC (g/L)}$ (Cheong et al., 2012), pour le jus d'orange, elle représente 7.8 ± 0.30 (Niu et al., 2008) et pour le jus de citron elle est de $52.40 \pm 2.50 \text{ EAC (g/L)}$ (Lorente et al., 2014) vu sa richesse en acide citrique.

Le pH et l'AT sont des éléments indicatifs de la quantité d'acides organiques et de sels, tels que le phosphore et le potassium contenus dans le fruit (Chhikara, 2018).

Selon Potter et Coneva (2018), un pH faible et une valeur AT élevée indiquent une durée de conservation plus longue du fruit.

Les fruits de genre *Citrus* ont une TSS entre 7.5 et 11° Brix, ce qui signifie moins d'acidité et plus de douceur. Les *C. Clementine* et *C. sinensis* Sanguinelli, Jaffa, Portugaise et Thomson ont une TSS supérieur à 10, ce qui indique également une plus grande douceur et un meilleur goût.

Le *C. aurantium* a été classé avec une TSS plus faible (3.35° Brix), ce qui reflète une douceur moindre, le goût amer revient à la présence des ions hydrogène qui caractérisent, en plus de contenir une grande quantité d'acide citrique (Reis et al., 2012 Chornomaz et al., 2013 ; Goldenberg et al., 2018).

À partir des données ci-dessus, des différences significatives entre 10 types d'agrumes ont été observées en termes de caractéristiques physico-chimiques différentes. De tous les types d'agrumes, le jus de mandarine présentait les meilleures caractéristiques de qualité en termes de paramètres mentionnés ci-dessus.

Tableau 05. Rendement, pH, acidité titrable et Total des solides solubles du jus fraîchement extrait des agrumes.

Cultivars	Rendement (%)	PH	AT EAC (g/L)	TSS (%)
<i>C.sinensis</i> Double fine	46.22 ± 0.54 ^d	3.92 ± 0.01 ^c	4.48 ± 0.19 ^f	9.81 ± 0.04 ^f
<i>C.sinensis</i> Portugaise	42.61 ± 0.66 ^e	4.01 ± 0.01 ^c	5.29 ± 0.15 ^{ef}	10.12 ± 0.11 ^{ef}
<i>C.sinensis</i> Thomson	47.83 ± 0.29 ^c	4.32 ± 0.02 ^b	5.43 ± 0.17 ^e	10.79 ± 0.03 ^{cd}
<i>C.sinensis</i> Washington	46.25 ± 0.21 ^d	3.79 ± 0.01 ^d	4.91 ± 0.05 ^{ef}	8.75 ± 0.03 ^g
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli	50.83 ± 0.58 ^b	4.86 ± 0.06 ^a	7.12 ± 0.02 ^d	10.89 ± 0.02 ^c
<i>C.sinensis</i> Jaffa	42.87 ± 0.53 ^e	3.22 ± 0.02 ^e	5.21 ± 0.11 ^{ef}	11.58 ± 0.10 ^b
<i>C.aurantium</i>	34.83 ± 0.57 ^g	2.89 ± 0.12 ^g	47.46 ± 1.01 ^b	3.35 ± 0.12 ^{de}
<i>C.Limon</i>	39.07 ± 0.46 ^f	2.27 ± 0.04 ^h	50.94 ± 0.42 ^a	4.92 ± 0.06 ^g
<i>C.maxima</i>	28.75 ± 0.25 ^h	3.00 ± 0.09 ^f	19.15 ± 0.99 ^c	5.49 ± 0.08 ^h
<i>C.Clementine</i>	52.26 ± 0.62 ^a	3.25 ± 0.08 ^e	6.34 ± 0.49 ^d	15.36 ± 0.8 ^a

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences ± SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

2.2. Analyses nutritionnelles du jus d'agrumes

Les agrumes contiennent de précieuses substances chimiques naturelles, ils constituent une excellente source de différents éléments et vitamines nécessaires au corps humain, notamment la vitamine C, les vitamines B, le potassium, le phosphore et d'autres éléments.

Nos analyses nutritionnelles ont montré que *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Citrus limon*, *Citrus maxima* et *Citrus clémentine* contenaient un niveau très élevé de glucides et un niveau faible de protéines, de lipides et de fibres. Les données relatives à la composition chimique globale des jus de différentes variétés d'agrumes sont résumées dans le tableau 06.

❖ Les glucides

Les glucides représentent les principaux constituants énergétiques des agrumes, et l'équilibre entre la teneur en glucides et en acides organiques naturels, principalement l'acide citrique, détermine la saveur plus ou moins sucrée de l'agrumes.

La teneur en glucides des agrumes est principalement constituée de sucres réducteurs sous forme de glucose, de fructose et de sucres non réducteurs (principalement le saccharose).

Les dix types d'agrumes se caractérisent par leur teneur élevée en glucides. La teneur la plus élevée en glucides est constaté dans les *C. sinensis* (13.84 ± 0.38 g/100g et 8.82 ± 0.44 g/100g), suivies par *C. clémentine* (13.46 ± 0.10 g/100g), *C. maxima* (07.79 ± 0.25 g/100g) et *C. aurantium* (05.96 ± 0.08 g/100g) cependant, la teneur faible était dans les *C. limon* avec une valeur de 04.20 ± 0.6 g/100g.

❖ Les protéines

Les résultats ont également indiqué de faibles niveaux de protéines dans les différents échantillons de jus de fruits, la quantité la plus élevée étant enregistrée dans le jus de *C. sinensis* (orange douce) contenant 0.71 ± 0.00 à 0.91 ± 0.02 g/100g, suivi du jus de *C. aurantium* (orange amer) avec 0.86 ± 0.01 g/100g de protéines, cependant, la teneur faible était dans les *C. limon* 0.43 ± 0.03 g/100g.

Tableau 06. Composition chimique globale des jus de différentes variétés d'agrumes

Cultivars	Glucides (g/100g)	Protéines (g/100g)	Lipides (g/100g)	Fibres (g/100g)
<i>C.sinensis</i> Double fine	10.46 ± 0.28 ^d	0.71 ± 0.00 ^d	0.25 ± 0.01 ^{abc}	1.35 ± 0.04 ^c
<i>C.sinensis</i> Portugaise	12.03 ± 0.24 ^c	0.88 ± 0.01 ^{bc}	0.09 ± 0.00 ^{bc}	0.95 ± 0.07 ^d
<i>C.sinensis</i> Thomson	13.84 ± 0.38 ^a	0.95 ± 0.003 ^a	0.33 ± 0.02 ^{ab}	02.21 ± 0.21 ^a
<i>C.sinensis</i> Washington	12.73 ± 0.22 ^b	0.90 ± 0.02 ^b	0.21 ± 0.00 ^{abc}	01.79 ± 0.11 ^b
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli	08.82 ± 0.44 ^e	0.70 ± 0.05 ^d	0.32 ± 0.01 ^{abc}	0.94 ± 0.06 ^d
<i>C.sinensi</i> Jaffa	10.35 ± 0.30 ^d	0.91 ± 0.02 ^b	0.35 ± 0.46 ^a	02.33 ± 0.04 ^a
<i>C.aurantium</i>	05.96 ± 0.81 ^g	0.86 ± 0.01 ^c	0.09 ± 0.00 ^{bc}	0.35 ± 0.05 ^e
<i>C.Limon</i>	04.20 ± 0.60 ^h	0.43 ± 0.03 ^g	0.07 ± 0.00 ^c	0.23 ± 0.02 ^e
<i>C.maxima</i>	06.79 ± 0.25 ^f	0.64 ± 0.03 ^e	0.09 ± 0.00 ^{bc}	1.61 ± 0.04 ^b
<i>C.Clementine</i>	13.46 ± 0.10 ^a	0.53 ± 0.02 ^f	0.31 ± 0.01 ^{abc}	1.86 ± 0.05 ^b

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences ± SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

❖ Les vitamines

Les résultats de la composition en vitamines des variétés d'agrumes étudiés ont montré que les dix types d'agrumes se caractérisaient par une teneur très élevée en β -carotènes (avec un taux le plus élevé constaté dans *C. aurantium* ($263.66 \pm 7.09 \mu\text{g/g}$), suivi par une teneur moyenne en vitamine C et une teneur faible en riboflavine (B2) et thanine B1 (Tableau 07).

Tableau 07. Composition en vitamines des jus d'agrumes

Cultivars	VitamineC (mg/100g)	β -carotènes ($\mu\text{g/g}$)	RiboflavineB2 (mg/100g)	ThanineB1 (mg/100g)
<i>C.sinensis</i> Double fine	$39.0 \pm 0.10^{\text{fg}}$	$88.0 \pm 1.00^{\text{e}}$	$0.03 \pm 0.001^{\text{d}}$	$0.39 \pm 0.52^{\text{a}}$
<i>C.sinensis</i> Portugaise	$59.10 \pm 0.10^{\text{c}}$	$91.0 \pm 1.00^{\text{e}}$	$0.04 \pm 0.00^{\text{b}}$	$0.08 \pm 0.004^{\text{b}}$
<i>C.sinensis</i> Thomson	$66.45 \pm 0.13^{\text{a}}$	$347.66 \pm 2.51^{\text{a}}$	$0.03 \pm 0.001^{\text{ef}}$	$0.07 \pm 0.001^{\text{b}}$
<i>C.sinensis</i> Washington	$55.16 \pm 0.15^{\text{d}}$	$75.66 \pm 2.51^{\text{f}}$	$0.02 \pm 0.001^{\text{g}}$	$0.08 \pm 0.001^{\text{b}}$
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli	$40.73 \pm 0.64^{\text{f}}$	$88.0 \pm 1.00^{\text{e}}$	$0.04 \pm 0.002^{\text{e}}$	$0.06 \pm 0.003^{\text{b}}$
<i>C.sinensis</i> Jaffa	$38.30 \pm 0.51^{\text{g}}$	$99.66 \pm 1.52^{\text{d}}$	$0.04 \pm 0.001^{\text{b}}$	$0.07 \pm 0.001^{\text{b}}$
<i>C.aurantium</i>	$64.0 \pm 1.00^{\text{b}}$	$263.66 \pm 7.09^{\text{b}}$	$0.06 \pm 0.002^{\text{a}}$	$0.13 \pm 0.01^{\text{ab}}$
<i>C.Limon</i>	$51.33 \pm 2.08^{\text{c}}$	$52.33 \pm 5.85^{\text{g}}$	$0.01 \pm 0.001^{\text{h}}$	$0.02 \pm 0.002^{\text{b}}$
<i>C.maxima</i>	$27.0 \pm 2.64^{\text{h}}$	$121.0 \pm 1.00^{\text{c}}$	$0.03 \pm 0.001^{\text{f}}$	$0.13 \pm 0.01^{\text{ab}}$
<i>C.Clementine</i>	$26.10 \pm 1.00^{\text{h}}$	$35.0 \pm 1.00^{\text{h}}$	$0.03 \pm 0.001^{\text{de}}$	$0.05 \pm 0.001^{\text{b}}$

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

Les agrumes sont riches en divers nutriments, tels que les vitamines A et C, l'acide folique, les fibres alimentaires et les éléments minéraux. En outre, ces fruits sont source de composés bioactifs, comme les flavonoïdes, les coumarines, les limonoïdes et les caroténoïdes.

Zhou et al. (2015), ont trouvé que, les agrumes sont riches en carotènes et en cryptoxanthine. La teneur en vitamine dans l'orange douce (*Citrus sinensis*) est de 0.27 mg.kg^{-1} et de 2.77 mg.kg^{-1} dans la mandarine (*Citrus reticulata*). Selon les rapports, la vitamine A peut réagir avec les radicaux libres (en particulier l'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$)) et les radicaux peroxy pour montrer sa propriété antioxydante.

Une étude réalisée par Canan et al. (2016) a trouvé des teneurs en vitamine C dans l'extraction de la mandarine (*Citrus Clémentine*), du pomelo (*Citrus maxima*), de l'orange navel (*Citrus sinensis*) et de la mandarine (*Citrus reticulata*) a atteint respectivement 30 mg / 100 g, 40 mg / 100 g, 60 mg / 100 g et 30 mg / 100 g.

La vitamine C est un piège naturel à radicaux libres, qui peut éliminer efficacement une variété d'espèces d'oxygène réactif (ROS) et dégager de l'acide semi-déshydro-ascorbique, éliminant oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) (Amitava et al., 2014).

❖ Les minéraux

Les agrumes sont très nutritifs en raison de leur important potentiel minéral, comme la montre dans le tableau 10. Nos analyses nutritionnelles ont montré que les dix types de *Citrus* sont riches en Ca et K qui est le constituant majeur des minéraux, suivi par un taux moyen de Mg et P et une teneur faible en Na et Fe. Les données relatives à la composition en minéraux des jus d'agrumes sont présentées dans le Tableau 08.

La teneur la plus élevée en K est constaté dans les *C. Clementine* ($166.66 \pm 1.15 \text{ mg/100g}$), en outre une teneur prédominante de Ca est observé dans *C. Limon* ($63.16 \pm 2.75 \text{ mg/100g}$).

Tableau 08. Composition en minéraux des jus d'agrumes.

Cultivars	Ca (mg/100g)	Mg (mg/100g)	Na (mg/100g)	P (mg/100g)	K (mg/100g)	Fe (mg/100g)
<i>C.sinensis</i> Double fine	40.30 ± 0.26 ^c	10.73 ± 0.05 ^f	4.50 ± 0.43 ^{de}	17.26 ± 0.46 ^f	147.66 ± 2.51 ^{de}	0.13±0.00 ^{de}
<i>C.sinensis</i> Portugaise	38.13 ± 0.70 ^d	11.26 ± 0.25 ^{ef}	1.30 ± 0.26 ^h	15.56 ± 0.23 ^g	153.0 ± 1.00 ^d	0.06±0.00 ^f
<i>C.sinensis</i> Thomson	43.30 ± 0.43 ^b	13.23 ± 0.20 ^c	5.10 ± 0.10 ^c	23.30 ± 0.26 ^b	239.0 ± 7.81 ^a	0.22±0.02 ^c
<i>C.sinensis</i> Washington	39.23±0.25 ^{cd}	11.83 ± 0.05 ^e	4.89 ± 0.09 ^{cd}	22.23 ± 0.20 ^c	168.33 ± 2.08 ^b	0.08±0.00 ^f
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli	36.10±0.36 ^e	12.23 ± 0.20 ^{de}	4.30 ± 0.26 ^e	18.03 ± 0.05 ^f	162.33 ± 1.52 ^c	0.14±0.00 ^d
<i>C.sinensis</i> Jaffa	33.83 ± 0.15 ^f	12.76 ± 0.15 ^{cd}	5.63 ± 0.20 ^b	16.26 ± 0.25 ^g	141.0 ± 6.24 ^f	0.10± 0.01 ^{ef}
<i>C.aurantium</i>	25.70 ± 0.26 ^g	16.40 ± 0.10 ^b	28.46 ± 0.45 ^a	25.60 ± 0.52 ^a	99.73 ± 0.30 ^g	0.10± 0.03 ^{ef}
<i>C.Limon</i>	63.16 ± 2.75 ^a	08.06 ± 0.37 ^g	1.66 ± 0.15 ^h	11.66 ± 1.52 ^h	146.33 ± 1.52 ^{ef}	0.28±0.05 ^b
<i>C.maxima</i>	20.83 ± 1.04 ^h	20.16 ± 0.76 ^a	2.86 ± 0.15 ^f	20.10 ± 0.10 ^{de}	105.33 ± 1.15 ^g	0.35±0.05 ^a
<i>C.Clementine</i>	37.83±1.04 ^{de}	12.53 ± 0.47 ^d	2.23 ± 0.25 ^g	19.30 ± 0.50 ^c	166.66 ± 1.15 ^{bc}	0.15±0.01 ^d

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences ± SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

Feumba et al. (2016) ont analysé la composition minérale de jus des variétés de *Citrus*, ils ont trouvé que le calcium était le minéral le plus abondant dans le jus des *Citrus*.

Zvaigzne et Kârkliõa. (2017) a également révélé que les agrumes ont une teneur très élevée en potassium (K) (300 mg dans 100 ml de jus d'orange et 200 mg dans le jus de pamplemousse), tandis que la teneur en sodium est relativement faible (3-4 mg/100 ml de jus d'orange et 4,5 mg/100 ml de jus de mandarine).

D'après Ani et Abel. (2018), la composition minérale des fruits dépend largement de nombreux facteurs tels que le type de sol, le stade de maturité, la variété des cultivars et d'autres facteurs géographiques.

3. Etude phytochimique des extraits hydro-méthanoliques et des jus des *Citrus*

L'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait de feuilles d'agrumes n'a pas été signalée précédemment pour toutes les variétés et, à notre connaissance, nos résultats peuvent être évalués parmi le premier rapport sur les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de plusieurs d'espèces du *Citrus*.

3.1. Analyses quantitatives

Afin de déterminer les propriétés des extraits méthanoliques et des jus de divers cultivars de *Citrus*, une analyse des teneurs de composés phénoliques totaux et de flavonoïdes a été effectuée. Ce choix est principalement motivé par le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribuées.

Les résultats de la détermination de la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans les extraits méthanoliques et les jus des agrumes (*Citrus L.*) ont révélé des concentrations variables de ces métabolites secondaires. (Tableau 9).

3.1.1. Polyphénols totaux

Les concentrations en composés phénoliques des différents extraits méthanoliques ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage $y=0.007+0.002$ ($r^2=0.994$) et exprimées en milligramme d'équivalence d'acide gallique utilisé comme standard pour cent grammes de la matière sèche végétale (mg EAG/100g MS).

Les résultats ont prouvé la présence de composants phénoliques dans les extraits de feuilles et les jus de plusieurs variétés d'agrumes (Tableau 09) avec des proportions différentes selon la variété et les parties de la plante étudiées.

D'après les résultats obtenus, les teneurs en polyphénols des jus d'agrumes sont nettement plus élevées que celles des extraits méthanoliques des feuilles (Figure 17).

Les concentrations des composés phénoliques sont significativement ($P < 0,05$) élevés respectivement pour le jus et l'extrait de feuilles de pamplemousse (*C. maxima*) (350.05 ± 13.21 et 91.76 ± 3.83 mg Eq AG.g⁻¹), Bigarade (*C. aurantium*) ($295,37 \pm 4.40$ et 106.62 ± 1.87 mg Eq AG.g⁻¹), sanguinelli (*C. sinensis*) (254.21 ± 2.33 et 49.49 ± 1.75 mg Eq AG.g⁻¹) et pour le citron (*C. Limon*) (231.16 ± 4.71 et 30.51 ± 1.94 mg Eq AG.g⁻¹).

Alors que les cinq variétés de l'oranger douce (*C. sinensis*) Thomson, Portugaise, Double fine, Jaffa et Washington contiennent des concentrations similaires respectivement pour les jus ($P > 0,05$) (133.10 ± 4.75 , 91.67 ± 2.18 , 112.18 ± 3.55 , 168.61 ± 4.97 et 162.87 ± 6.78 mg Eq AG.g⁻¹).

Comme pour les jus, les extraits méthanoliques sont riches en composés phénoliques avec des taux respectivement de 35.09 ± 4.35 , 36.56 ± 1.95 , 38.57 ± 3.26 , 62.59 ± 2.08 et 30.64 ± 1.42 mg Eq AG.g⁻¹.

Il a été démontré à travers plusieurs travaux antérieurs que les composés phénoliques totaux les extraits méthanoliques de feuilles et de jus d'agrumes variaient de manière significative ($P < 0,05$) d'une espèce à l'autre, en fonction de la variété d'agrumes et de la partie utilisée (Lagha-Benamrouche et Madani, 2013 ; Khettal et al., 2017).

L'analyse comparative des quantités de polyphénols totaux avec les données de la littérature révèle qu'ils sont très similaires. En effet, une étude réalisée par Lagha-Benamrouche et Madani. (2013) a montré que la teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles de différentes variétés de *Citrus sinensis* varie de 12.54 à 20.42 mg Eq AG.g⁻¹, alors que pour la variété de *Citrus aurantium*, la teneur en polyphénols totaux est de 44.41 ± 0.45 mg Eq AG.g⁻¹.

Les résultats obtenus concordent avec ceux de Muthiah et *al.* (2012), qui ont montré que la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits de *C. aurantium*, *C. limetta* et de *C. limon* varient entre 07.39 et 33.05 mg/g dans l'ordre suivant : *C. aurantium* > *C. limetta* > *C. limon*.

D'après nos résultats, la moyenne des taux de polyphénols dans les extraits méthanoliques de feuilles de diverses variétés d'agrumes est d'environ 50.08 mg Eq AG g⁻¹. Cette concentration est similaire à celle des composés phénoliques retrouvés dans les extraits méthanoliques des feuilles d'autres variétés d'agrumes telles que *Citrus* comme *Citrus medica* vr. *Diamante* (Menichini et *al.*, 2011) ou *C. sinensis* (Kammoun et *al.*, 2012).

Un résultat similaire a été trouvé par Al-Anbari et *al.* (2015), avec l'extrait méthanolique des feuilles de quelques espèces des *Citrus* dont la teneur en phénols totaux pour le pamplemousse est de 373.2, 292.1 mg Eq AG.g⁻¹, l'orange, entre 36.9 et 75,9 mg Eq AG.g⁻¹ et pour la mandarine, elle est de 123.6 et 122.5 mg Eq AG.g⁻¹

L'étude faite par Khettal et *al.* (2017) a montré que la teneur en phénols totaux des extraits de feuilles de six variétés de *Citrus* (*C. clementina*, *C. aurantifolia*, *C. limon*, *C. navel*, *C. aurantium*, *C. grandis*) est de 125.28, 106.05, 98.06, 86.48, 69.97 et 68.23 mg Eq AG.g⁻¹ respectivement.

En outre, l'étude de Cindy et *al.* (2017) réalisée sur les jus de différents cultivars des *Citrus* a montré que la teneur en phénols totaux varie de 480 à 535 mg Eq AG.g⁻¹.

Tounsi et *al.* (2011) ont testé les jus des variétés de *Citrus* de la Tunisie, ils ont trouvé que le jus d'agrumes contient 86,4 %, 73,13 %, 83,90 % et 74,52 % de phénols dans les échantillons de *Citrus aurantium*, *Citrus Clementina*, *Citrus sinensis* et *Citrus limon* respectivement.

Dans une autre recherche menée par Kelebek. (2010) en Turquie, la concentration de composés phénoliques totaux s'est avérée similaire à nos résultats et se situait entre 441 et 725 mg Eq AG.g⁻¹

Rekha et *al.* (2012) ont rapporté que la teneur totale en composés phénoliques de plusieurs jus obtenus à partir de fruits mûrs et non mûrs de *C. limon*, *C. reticulata*, *C. sinensis* et *C. aurantium* variait de 532 à 960 mg Eq AG.L⁻¹.

Abad-García et ses collaborateurs. (2014) ont testé les jus de quatre variétés d'agrumes, ils ont trouvé que la teneur en composés phénoliques totaux est de 548-1.407 mg Eq AG.L⁻¹ dans les jus d'orange douce, 215-1.335 mg Eq AG.L⁻¹ dans les jus de mandarine, 658-1.538 mg Eq AG.L⁻¹ dans les jus de citron et de 1.173-2.216 µg Eq AG.g⁻¹ dans les jus de pamplemousse.

Hunlun et *al.* (2017) ont testé les jus des fruits d'orange navel et de la mandarine, ils ont trouvé des teneurs en phénols totaux de 115 et 482 mg Eq AG.g⁻¹. L'étude réalisée par Irkin et *al.* (2015) sur le contenu en polyphénols totaux des jus de quatre cultivars d'agrumes (*Citrus*) : mandarine (*Citrus reticulata*), orange (*Citrus sinensis*), pamplemousse (*Citrus grandis*) et citron (*Citrus limon*) de la Turquie, a démontré que ces jus en contiennent de 523.44 à 657.65 mg Eq AG.L⁻¹.

Selon nos résultats, les jus d'agrumes contenaient une quantité très significative de phénols totaux qui pourraient augmenter l'apport en antioxydants dans l'alimentation humaine.

Des études de Xi et *al.* (2017) ont indiqué que les *Citrus* sont riches en acides phénoliques : l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide caféique et l'acide férulique, l'acide caféique.

Zhang et *al.*, 2017 ont identifié cinq acides phénoliques de l'orange douce et de l'orange aigre, et ont constaté que l'acide férulique était l'acide phénolique le plus abondant analysé en orange.

L'acide gallique était l'acide phénolique majeur dans les différentes parties du pamplemousse, suivi par l'acide chlorogénique, l'acide caféique et l'acide férulique (Xi et *al.*, 2015). L'acide caféique et l'acide chlorogénique étaient les acides phénoliques dominants dans le citron, suivis de l'acide gallique et de l'acide férulique.

3.1.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont parmi les métabolites secondaires les plus répandus dans le règne végétal. Les résultats de l'analyse des flavonoïdes dans les extraits de feuilles et les jus de *Citrus* présentés dans le tableau 09, révèlent une variation du taux de flavonoïdes en fonction de l'espèce et des parties de la plante utilisées.

La teneur en flavonoïdes dans les jus est nettement supérieure à celle observée dans les extraits méthanoliques des feuilles.

L'espèce *C. maxima* présente les teneurs les plus élevées en flavonoïdes que ce soit pour les jus ou l'extrait méthanolique avec des valeurs 55.38 ± 0.36 et 16.98 ± 0.16 mg Eq Q.g⁻¹ respectivement.

L'espèce *C. aurantium* quant à elle présente un taux élevé des flavonoïdes dans les jus 26.08 ± 0.10 mg Eq Q.g⁻¹ et l'extrait méthanolique des feuilles 13.81 ± 0.07 mg Eq Q.g⁻¹. D'autre part, *C. sinensis* Double fine présente le taux le plus faible en flavonoïde dans l'extrait méthanolique (3.67 ± 0.25 mg Eq Q.g⁻¹), mais un taux de flavonoïde élevés dans le jus (20.58 ± 0.25 g Eq Q.g⁻¹).

Les teneurs en flavonoïdes des jus sont significativement ($P < 0,05$) supérieures aux teneurs trouvées avec les extraits hydro-alcooliques des feuilles.

Les quantités de flavonoïdes dans les polyphénols totaux que nous avons obtenues concordent plus ou moins avec celles mentionnées dans des recherches précédentes, telles que celle de Bougandoura et Bendimerad, 2012 qui ont déduit que les flavonoïdes représentent 43.24% et 60.68 % et 74.05 % des phénols totaux dans l'extrait méthanolique.

Les résultats obtenus suggèrent que les polyphénols des feuilles de *Citrus* solubles dans le méthanol sont principalement composés de flavonoïdes. Cependant, des études menées par Muthiah et al. (2012) ont révélé que les proportions de flavonoïdes par rapport aux polyphénols totaux varient en fonction de l'espèce de *Citrus* utilisée et de la partie de la plante étudiée.

Effectivement, les recherches effectuées sur *Citrus medica* ont montré que la teneur des flavonoïdes par rapport aux polyphénols totaux dans les extraits méthanoliques de cette espèce sont moins importantes (Menichini et al., 2011).

D'autre part, le dosage des polyphénols dans les extraits de *C. limon*, *C. aurantium* et *C. limetta* a révélé que la teneur de flavonoïde varie en fonction de la partie de la plante utilisée entre 0,51 et 21,62 mg Eq Q.g⁻¹) (Muthiah *et al.*, 2012).

Un résultat similaire a été trouvé par Lagha-Benamrouche et Madani (2013), avec les cultivars *C. sinensis* Thomson, Portugaise, Double fine, Jaffa et Washington dont la teneur en flavonoïdes varie entre 2.67 ± 0.05 et 1.35 ± 0.02 mg Eq Q.g⁻¹ et *C. aurantium* dont la teneur en flavonoïdes est 3.25 ± 0.07 mg Eq Q.g⁻¹.

L'étude de Adnan *et al.*, (2014) a montré que les teneurs en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de *C. paradisi*, *C. sinensis* et *C. limon* sont de 25.5 ± 3.18 , 21.9 ± 1.27 et 19.9 ± 0.49 mg Eq Q.g⁻¹.

Khettal *et al.* (2017) ont testé les extraits méthanoliques de feuilles de *Citrus*, ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes de sept espèces de la famille de *Citrus* (*C. clementina*, *C. aurantium*, *C. limon*, *C. sinensis* : vr Thomson navel et hamlin, *C. grandis* and *C. aurantifolia*) est de 46.25 ± 2.58 , 11.99 ± 1.80 , 38.73 ± 1.54 , 19.78 ± 1.98 , 18.28 ± 2.75 , 13.06 ± 1.78 et 38.36 ± 1.47 (mg Eq Q.g⁻¹) respectivement.

Gómez-Mejía *et al.* (2019) ont testé les extraits méthanoliques de différentes espèces de *Citrus*, y compris de *Citrus clémentine*, ils ont trouvé que la teneur en flavonoïdes varie entre 5,5 mg Eq Q.g⁻¹ et de 16,5 mg Eq Q.g⁻¹.

L'étude d'Abirami *et al.* (2014), réalisée sur deux cultivars de *Citrus* (*C. hystrix*, *C. maxima*) a montré que les teneurs en flavonoïdes des jus varient de 224,88 à 262,22 mg Eq Q.g⁻¹. Ces résultats indiquent qu'une teneur plus élevée en flavonoïdes est associée à une teneur totale en phénols plus élevée dans le jus.

L'étude de Cindy *et al.* (2017) réalisée sur trois types d'agrumes (mandarine clémentine, orange navel et orange Valencia) a montré que la teneur en flavonoïdes des jus est de 125–339 mg Eq Q.g⁻¹ significativement ($P < 0, 05$) supérieure à celle trouvée avec nos résultats.

La concentration de flavonoïdes mesurée dans des échantillons de différentes variétés des *Citrus* étaient de 01.50 à 02.30 mg Eq Q.g⁻¹ dans une recherche menée par Irkin et *al.* (2015).

Cependant, dans notre recherche, les niveaux de composés flavonoïdes trouvés dans les échantillons de *Citrus* se sont avérés plus élevés que ces valeurs. Cela est probablement dû à la variété de plantes et aux conditions de plantation des fruits utilisés dans notre étude.

Néanmoins, la comparaison de ces résultats avec ceux de la littérature s'avère difficile en raison de l'utilisation de diverses méthodes d'extraction, ce qui réduit la fiabilité des comparaisons entre les différentes études.

De nombreux facteurs peuvent influencer le taux de flavonoïdes et de flavonols. En effet, des recherches ont montré que des éléments extrinsèques, tels que les conditions géo-climatiques, les facteurs génétiques et le degré de maturation de la plante, ont une influence considérable sur le contenu en flavonoïdes et flavonols (Babbar et *al.*, 2015).

Selon Amar et *al.* (2019), diverses réactions peuvent se produire du stockage des fruits, telles que la dépolymérisation, la dégradation des monomères, la précipitation et la polymérisation, influençant ainsi leur teneur en composés phénoliques.

Tableau 09. Teneur en phénols des jus et des feuilles de certaines variétés d'agrumes

Cultivars	Phénols totaux (mg Eq AG/ g) (mg Eq AG/ ml)	Flavonoïdes (mg Eq Q/ g)
<i>C.sinensis</i> Double fine		
Jus	112.18±3.55 ^g	20.58±0.25 ^g
Extrait des feuilles	38.57±3.26 ^l	3.67±0.25 ^o
<i>C.sinensis</i> Portugaise		
Jus	91.67±2.18 ^h	22.67±0.56 ^e
Extrait des feuilles	36.56±1.95 ^{lm}	4.15±0.25 ^o
<i>C.sinensis</i> Thomson		
Jus	133.10±4.75 ^f	16.33±0.17 ⁱ
Extrait des feuilles	35.09±4.35 ^{lm}	6.43±0.39 ^m
<i>C.sinensis</i> Washington		
Jus	162.87±6.78 ^e	19.03±0.16 ^h
Extrait des feuilles	30.64±1.42 ^m	4.69±0.63 ⁿ
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli		
Jus	254.21±2.33 ^c	21.34±0.22 ^f
Extrait des feuilles	49.49±1.75 ^k	6.82±0.31 ^m
<i>C.sinensis</i> Jaffa		
Jus	168.61±4.97 ^e	29.70±0.11 ^b
Extrait des feuilles	62.59±2.08 ^j	6.38±0.55 ^m
<i>C.aurantium</i>		
Jus	295.37±4.40 ^b	26.08±0.10 ^c
Extrait des feuilles	106.62±1.87 ^g	13.81±0.07 ^l
<i>C.Limon</i>		
Jus	231.16±4.71 ^d	25.04±0.23 ^d
Extrait des feuilles	30.51±1.94 ^m	14.64±0.07 ^k
<i>C.maxima</i>		
Jus	350.05±13.21 ^a	55.38±0.36 ^a
Extrait des feuilles	91.76±3.83 ^h	16.98±0.16 ^j
<i>C.Clementine</i>		
Jus	75.60±3.06 ⁱ	20.51±0.13 ^g
Extrait des feuilles	31.43±1.49 ^m	4.84±0.35 ⁿ

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences ± SD. GAE : équivalents d'acide gallique, QE : Équivalents de quercétine. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (*P < 0,05), quelle que soit la nature du jus ou des feuilles. Les résultats sont triés par ordre décroissant : a > b > c > d > e > f > g > h > i > j > k > l > m > n > o.

3.2. Analyse des composés phénoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La détection et la quantification des composés phénoliques des extraits ont été réalisées par HPLC, avec séparation et détection à 280 nm. Cinq composés phénoliques purs Narirutine (Nrt), Naringenine (Ngn), Hesperidine (Hsp), Quercétine (Qrt) et Eriocitrine (Ert) ont été utilisés, dans l'analyse HPLC comme des standards, Leurs temps de rétention sont respectivement de 08,27, 20,00, 28,09 et 53,39 minutes, en comparant les temps de rétention des composés phénoliques standards avec les pics des chromatogrammes issus de divers extraits examinés.

L'analyse des composés phénoliques par HPLC a montré la présence de l'hesperidine narirutine, naringenine, quercétine et eriocitrine. Parmi les flavanones identifiées à partir des cultivars testés, l'hespéridine était la flavanone la plus dominante, suivie par la naringine, narirutine, quercétine et l'ériocitrine.

Les teneurs en hespéridine variaient de 2.37 à 1198.99 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de poids net dans les feuilles et de 4.43 à 1515,59 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de poids net dans les jus, respectivement. *C.maxima* étaient les plus riches en hespéridine (60,15-98,99 mg/100 g) (Figure 41, 42 Annexe I).

Les teneurs en naringine variaient de 0,00 à 176,31 mg/100 g de poids net dans les feuilles, de 0,00 à 919,28 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de poids net dans les jus, respectivement. Dans les feuilles, la plus forte concentration d'hespéridine a été trouvée dans *Citrus maxima* (261,9 $\mu\text{g}/\text{ml}$), suivie de *Citrus aurantium*, puis *Citrus limon* et de très faibles concentrations dans les feuilles de *Citrus sinensis* (19,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Une quantité de 20,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ est retrouvée dans le jus de *Citrus sinensis*.

La Narirutine (Nrt) a été détecté dans le jus de *Citrus aurantium* à des temps de rétention de 15.00 et 16.27 min (Figure 43, Annexe I) et dans l'extrait méthanolique des feuilles à des temps de rétention de 14.59 et 15.49 min (Figure 44, Annexe I) respectivement ; les quantités trouvées dans l'extrait hydro-méthanolique sont de 846.68 $\mu\text{g}/\text{g}$ et 1620,77 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dans le jus respectivement.

Dans l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus Limon* (Figure 45 Annexe I) la naringine a été détectée à des temps de rétention de 24.54 min avec des quantités de 1525.29 µg/g.

La teneur en narirutine (Nrt) variait de 0,00 à 78,39 µg/mg de poids net dans les feuilles, et l'eriocitrine a été détectée à des temps de rétention de 47. 21 min avec des quantités de (Ert) de 0,00 à 268,69 µg/ml de poids net dans les jus, respectivement.

La narirutine a été détectée dans le *C. sinensis* (Figure 47, 48 Annexe I) à des temps de rétention de 14.49 et 17.32 min avec des quantités de 740.49 et 1525.29 µg/g respectivement, une teneur relativement élevée par rapport aux autres espèces.

De même, l'analyse des composés phénoliques par HPLC a montré la présence de naringénine (Ngn) et Quercétine (Qrt) à des temps de rétention de 23.50 et 49.14 min dans les extraits méthanolique des feuilles des *Citrus sinensis sanguinelli*.

L'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Citrus clementine* a révélé la présence de l'hespéridine à des temps de rétention de 12.56 min (Figure 49 Annexe I) avec des quantités de 635.92 µg/g, par contre dans le jus la présence de l'hespéridine à un temps de rétention de 40.00 min (Figure 50, Annexe I) avec une quantité de 1011.67 µg/ml.

De nombreuses études se sont intéressées à l'identification des composés polyphénoliques principalement les flavonoides dans les extraits et les jus de *Citrus* par HPLC. En effet, l'étude de Khan et *al.* (2014) ont révélé la dominance des flavanones, y compris l'hespéridine, la naringénine et leurs glycosides respectifs, sont présents dans la majorité des flavonoïdes des espèces d'agrumes.

L'analyse des flavonoides de variétés de *Citrus maxima* et *Citrus reticulata* par HPLC a révélé la présence de l'hespéridine dans le jus avec des teneurs de 20.6 et 9.4 µg/ml respectivement (Adham, 2015).

Chen et *al.* (2020) ont montré que l'hespéridine et la naringine étaient les flavanones les plus dominantes dans les agrumes testés, avec des teneurs de 0,00 à 2298,99 mg/100 g DW et de 0,00 à 1676,31 mg/100 g DW. Le jus de *C. aurantium* présente le taux le plus élevé de néohespéridine et constitue également une bonne source de naringine.

Enfin, la teneur en flavonoïdes varie selon les différentes espèces d'agrumes. Par exemple, l'hespéridine et ses glycosides (hespéridine et néohespéridine) sont des flavanones caractéristiques de l'orange douce, du tangelo, du citron et du citron vert, tandis que la naringine et ses glycosides (narirutine et naringine) sont ceux du pamplemousse et de l'orange amer (Simonne et *al.*, 2006).

Des quantités importantes d'hespéridine sont également présentes dans les pamplemousses, tandis que la néohespéridine est abondante dans le tangelo et l'orange amer.

La naringine était la flavanone prédominante dans les variétés de pamplemousses (4,63 mg/g) qui ont des niveaux de flavones plus élevés que le pamplemousse (Zhang et *al.* 2011). Dans le pamplemousse et l'orange aigre, la naringine est présente avec des teneurs différentes selon les variétés (Igual et *al.*, 2013).

Par rapport au pamplemousse et à l'orange aigre, d'autres espèces d'agrumes comme l'orange douce, le tangelo, le citron et le citron vert présentent des quantités plus faibles de naringine (Peterson et *al.*, 2006). En revanche, les rutinoside flavanones, l'hespéridine et la narirutine, sont présents dans les jus d'orange, de mandarine et de citron (Scordino, et Sabatino, 2014).

Les comparaisons des teneurs totales en flavonoïdes et des teneurs totales en phénols de cinq espèces d'agrumes ont montré que *C. maxima* possède les quantités les plus élevées, suivies de *C. sinensis* et *C. Clementine*.

Les différences observées entre nos résultats et les données de la littérature pourraient être expliquées par la provenance géographique des fruits (Babbar et *al.*, 2015), Le solvant d'extraction pourrait aussi être à l'origine des variations dans les composés phénoliques des extraits (khan et *al.*, 2014 ; Zhou et *al.*, 2015 ; Khettal et *al.*, 2017).

4. Activités biologiques des extraits méthanoliques et des jus des agrumes

4.1. Activités biologiques (*in vitro*)

4.1.1. Activité antioxydante

Plusieurs recherches soulignent l'importance accordée aux antioxydants naturels dans les secteurs de l'industrie agroalimentaire et médicale. Elles mettent également en évidence leurs fonctions protectrices contre les espèces réactives oxygénées, ainsi que la corrélation existante entre les composés bioactifs des matières végétales et leurs capacités antioxydantes (Jiang, *et al.*, 2014).

Pour mesurer l'activité antioxydante des extraits végétaux, trois techniques ont été réalisées, en utilisant le radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), la technique FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et la méthode de blanchissement de la β carotène.

4.1.1.1. Test de DPPH

Le modèle de piégeage des radicaux DPPH est couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante sur une période relativement courte comparativement à d'autres méthodes Wang *et al.* (2017). L'analyse spectrophotométrique à 517 nm permet de déterminer l'activité antioxydante en observant la réduction du DPPH qui se traduit par le passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Les résultats obtenus montrent que les extraits de feuilles et les jus de *Citrus* de différentes espèces testées *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Citrus limon*, *Citrus clementina* et *Citrus maxima* pour les différentes parties extraits hydroalcoolique des feuilles et jus présentent un pouvoir piégeur du radical DPPH avec des pourcentages de 50,21 % à 84,69 % et 57,58 % à 95,41 % respectivement pour une concentration d'extrait de 0,1 mg.ml⁻¹.

Le pamplemousse (*Citrus maxima*) et la bigarade (*Citrus aurantium*) présentent les niveaux les plus élevés d'activité anti-radicalaire pour les différentes parties jus et extraits des feuilles de la plante (Figure 18). Puissance équivalente pour les variétés de *Citrus sinensis* Thomson, Sanguinelli, Jaffa, Portugaise et Washington. Ces résultats sont similaires (* $P > 0,05$) à ceux obtenus avec l'acide ascorbique et du BHT.

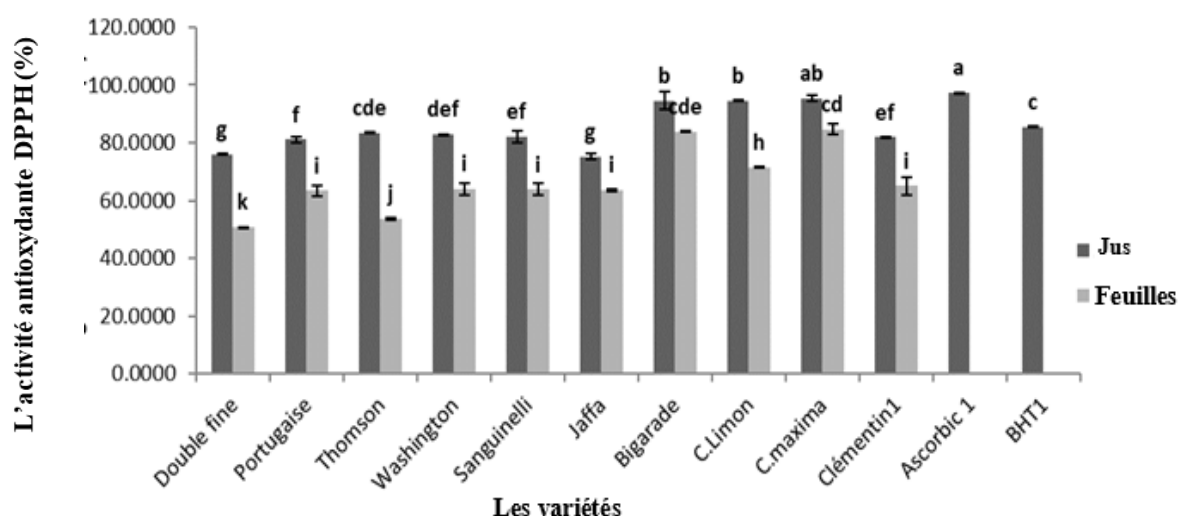


Figure 18. Le pourcentage de l'activité antioxydante des extraits des feuilles et de jus de *Citrus*.

L'extrait de citrus à 1 mg/ml et des standards à 40µg/ml. DPPH : 1,1-diphényl 1-2-picrylhydrazyl. BHT : hydroxytoluène butylé. Les valeurs portant la même lettre n'ont pas montré de différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h > i > j > k$.

Pour évaluer l'efficacité antioxydante du radical DPPH des extraits de *Citrus*, Les valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées dans le tableau 10. Une IC₅₀ faible correspond à une forte capacité d'inhibition du radical DPPH.

L'IC₅₀ trouvée dans le jus ($0,39 \pm 0,026$ mg.ml⁻¹) est significativement plus élevée (* $P < 0,05$) que celle trouvée dans les extraits hydro-alcooliques ($0,51 \pm 0,005$ mg.ml⁻¹). Toutefois, les IC₅₀ présentes dans le BHT et l'acide ascorbique sont significativement inférieures (* $P < 0,05$) aux IC₅₀ des extraits et des jus ($0,72 \pm 0,042$ mg/ml), ($0,38 \pm 0,026$ mg/ml) respectivement.

Tableau.10 Les valeurs d'IC₅₀ (mg.ml⁻¹) des différents extraits et jus testés.

Cultivars/Standards	IC50 (mg/ml)		
	Jus	Extrait	Standards
Double fine	0.76±0.016 ^f	0.89±0.018 ⁱ	
Portugaise	0.75±0.025 ^{ef}	1.00±0.008 ^j	
Thomson	0.57±0.039 ^{cd}	0.88±0.014 ^{hi}	
Washington	0.59±0.266 ^d	1.05±0.052 ^k	
Sanguinelli	0.73±0.016 ^e	0.86±0.02 ^{gh}	
Jaffa	0.83±0.059 ^g	0.89±0.017 ^{hi}	
<i>C.aurantium</i>	0.44±0.032 ^a	0.57±0.016 ^{cd}	
<i>C. Limon</i>	0.44±0.009 ^a	0.71±0.003 ^e	
<i>C. maxima</i>	0.42±0.023 ^a	0.51±0.005 ^b	
<i>C.Clementine</i>	0.56±0.024 ^c	0.85±0.008 ^g	
Acide Ascorbique			0.39±0.026 ^c
BHT			0.72±0.042 ^b

DPPH : 1,1-diphényl 1-2-picrylhydrazyl. **BHT** : hydroxytoluène butylé. **IC50** : concentration de l'échantillon nécessaire pour une inhibition de 50 %. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne de trois expériences ± SD. Les valeurs portant les mêmes lettres n'ont pas montré de différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre croissant : $a < b < c < d < e < f < g < h < i < j < k$.

Ce travail a révélé que les extraits de différentes espèces de *Citrus* analysées démontrent une activité anti-radicalaire comparable à celle décrite par Muthiah et al. (2012) pour les feuilles de *C. limetta* et de *C. aurantium*, avec des valeurs IC50 respectives de 0,148 mg/ml et 0,142 mg/ml.

Jabri-karoui et Marzouk (2013) montrent que pour *C. aurantium* l'IC50 est de 0,190 mg/ml mais sensiblement meilleure que celle de l'extrait méthanolique de feuilles de *Citrus medica* vr. *Diamante* (IC50= 0,5 mg/ml) (Menichini et al., 2011).

Khettal. *et al.* (2017) ont évalué l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et aqueux des feuilles des *Citrus* par plusieurs méthodes, avec la méthode de DPPH les IC50 trouvées sont de 35,35 µg/ml et 95,78 µg/ml pour les l'extrait aqueux de *C. limon* et l'extrait méthanolique de *C. hamlin* respectivement.

Sicari *et al.* (2016) ont testé l'activité antioxydante des jus de variétés de *Citrus sinensis* et *Citrus clémentine*, ils ont montré une grande activité antioxydante avec un pourcentage de 64.53 et 61.39 % respectivement.

La différence observée dans l'activité réductrice du radical DPPH entre les extraits des divers agrumes est vraisemblablement associée à la diversité de la composition en métabolites antioxydants, tels que les composés phénoliques, l'acide ascorbique, les tocophérols, les flavonoïdes et les tanins (Swallah *et al.*, 2020).

Les polyphénols et les flavonoïdes sont de bons transmetteurs d'électrons et/ou d'hydrogène, leur capacité antioxydante variant selon le composé (Naczki *et Shahidi*, 2004 ; Bourgou *et al.*, 2008).

Il est pertinent de lier l'activité antioxydante des extraits à leur teneur en composés phénoliques afin d'identifier les responsables de ce pouvoir. Pour explorer cette relation, nous avons déterminé la corrélation entre les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et les différentes activités antioxydantes

Les résultats représentés dans les figures 19 et 20 indiquent que les *Citrus* présentent une corrélation significativement élevée entre leurs efficacités à piéger le radical DPPH et les taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes de leurs jus ($r = 0,650$ et $r = 0,563$) et extraits méthanoliques ($r = 0,761$ et $r = 0,805$) respectivement.

L'étude de corrélation a révélé que les polyphénols présents dans les extraits des feuilles de *Citrus* sont responsables de 63 % à 70 % de la capacité anti-radical du DPPH.

D'autre part, en comparant les coefficients de corrélations obtenus, il apparaît que les flavonoïdes sont principalement responsables de l'effet scavenging du radical DPPH, contrairement aux autres composés phénoliques présents dans nos extraits, tels que les acides phénoliques ou les flavonols

Concernant les flavonoïdes, les coefficients de corrélation sont de $r=0,563$ pour les jus et de $r=0,805$ pour l'extrait méthanolique. En revanche, ils ne sont que de $r=0,650$ (pour les jus) et $r=0,761$ (pour l'extrait méthanolique) en ce qui concerne les polyphénols totaux.

Comme pour d'autres études notamment celle de Floegel *et al.* (2011), il semblerait que les capacités antioxydantes d'espèces de *Citrus* récoltés en Algérie pour notre étude, soient liées à la concentration de polyphénols est plus particulièrement à celles des flavonoïdes.

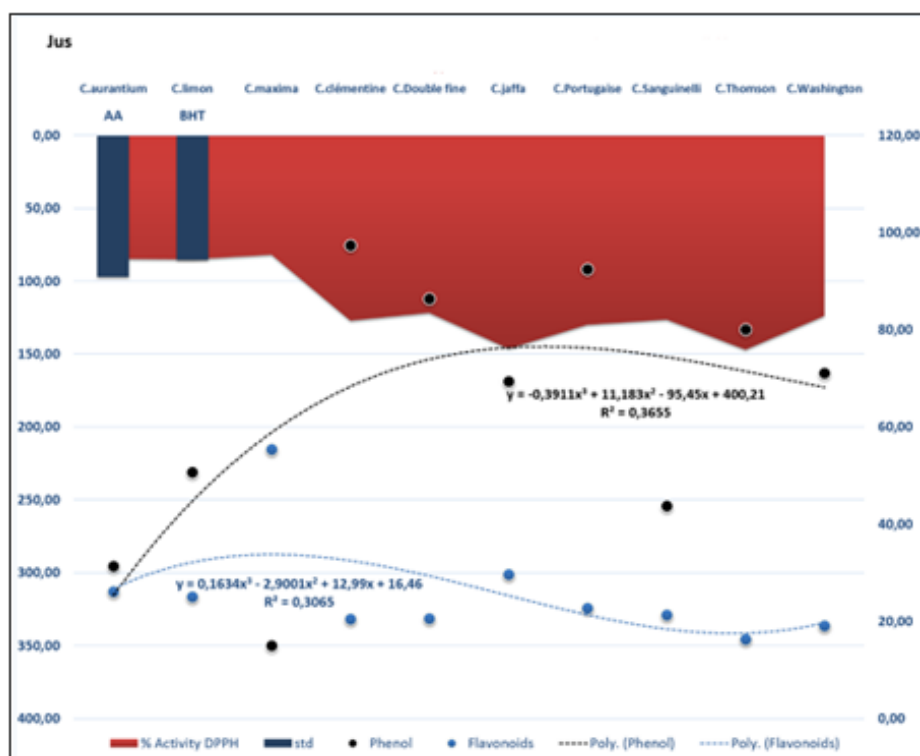


Figure 19. Pourcentage de l'activité antioxydante DPPH par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de jus des différents cultivars étudiés

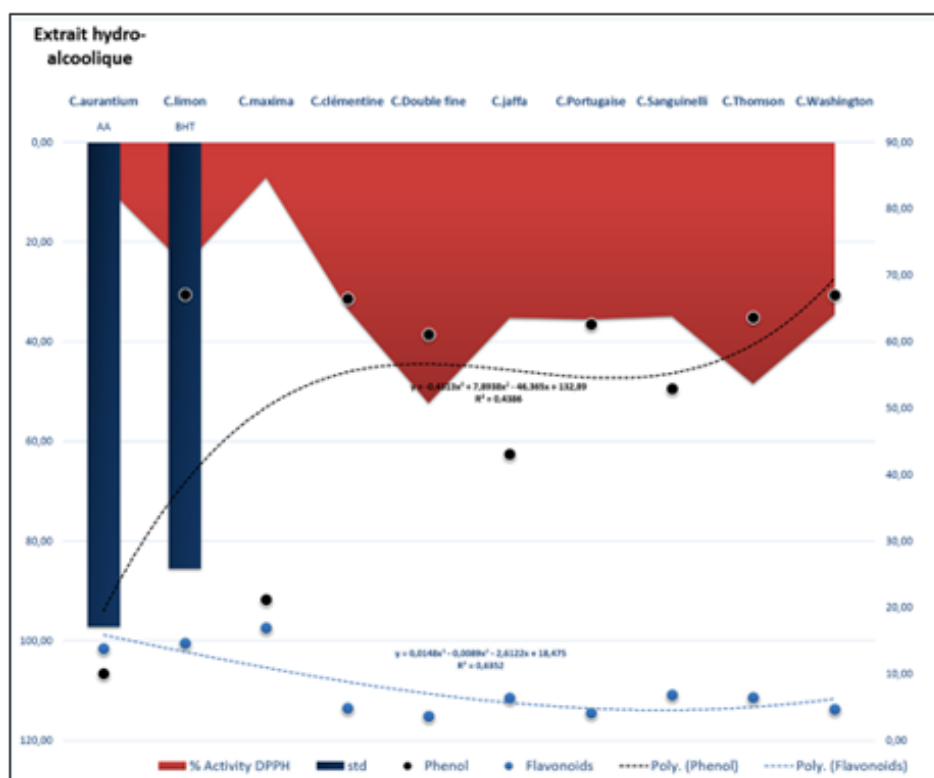


Figure 20. Pourcentage de l'activité antioxydante DPPH par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de feuilles des différents cultivars étudiés

Les agrumes et leurs parties dérivées (feuilles et jus) montrent également de fortes radicalités de balayage, ce qui suggère la présence des antioxydants. En fait, ces agrumes et leurs parties dérivées contiennent une forte teneur en flavonoïdes qui montre une corrélation positive avec leur capacité antioxydante (Zou et *al.*, 2016 ; Islam et *al.*, 2018).

En effet, l'activité antioxydante des flavonoïdes d'agrumes augmentent de manière dose-dépendante (Yu et *al.*, 2014).

Zou et *al.* (2016) ont démontré que, les composés phytochimiques des agrumes peuvent agir comme une protection contre l'accumulation de ROS/RNS et les éliminer du système, par la déshydrogénation irréversible.

4.1.1.2. Réduction du Fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

En plus des méthodes précédemment décrites, l'activité antioxydante a été mesurée à l'aide du test FRAP, qui repose sur la capacité des extraits à réduire les ions fer ferrique (Fe^{3+}) en ions de fer ferreux (Fe^{2+}).

La réduction du fer ferrique entraîne un changement de couleur du jaune au bleu-vert. L'intensité de cette coloration est proportionnelle au pouvoir réducteur des composés présents dans le milieu réactionnel (Zou et *al.*, 2004). Il absorbe à une longueur d'onde de 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits a été comparé à celui d'un agent réducteur connu, le BHT (Figure 21).

Afin de tester la capacité de réduction, un ensemble de concentrations de 100 à 1000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ a été utilisé pour chaque extrait. Une augmentation de l'absorbance indique un pouvoir réducteur élevé (Gülçin, 2010).

À une concentration de 800 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, le pouvoir réducteur des extraits varie entre 0,2351 et 0,767. Le jus révèle une activité intéressante ($0.345 \geq \text{D.O} \geq 2.351$). Cependant, les extraits méthanoliques révèlent une activité de $0.219 \geq \text{D.O} \geq 1.543$.

Le jus a la plus grande capacité d'absorption, surtout avec le pamplemousse (*Citrus maxima*) et la bigarade (*Citrus aurantium*) (2.354, 2.165). Une capacité de réduction similaire (* $P > 0,05$) a été constatée avec l'orange douce (*Citrus sinensis*) et (*Citrus clementina*) la mandarine.

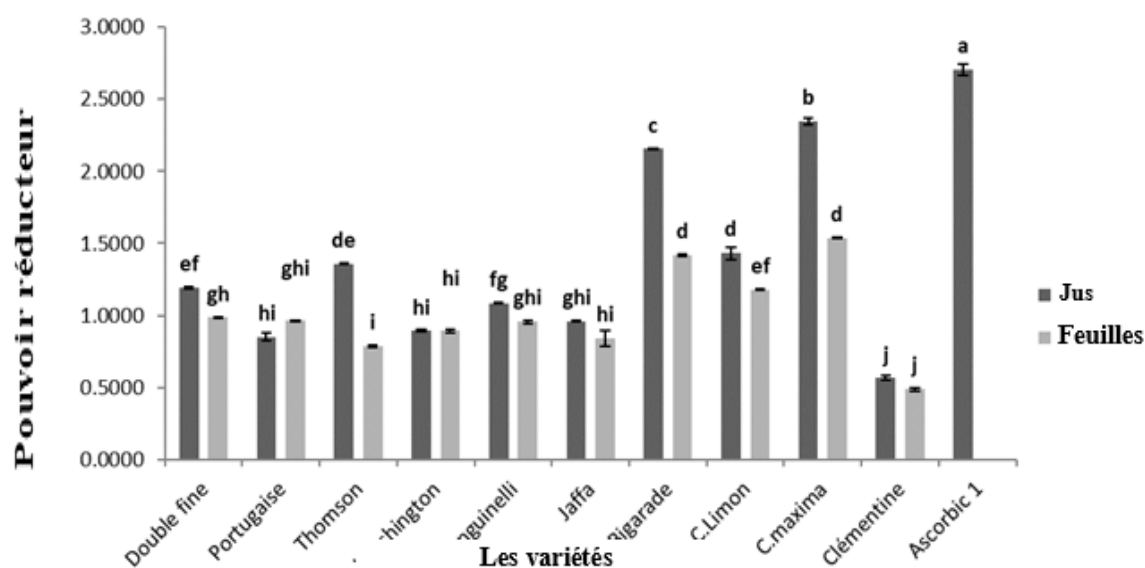


Figure 21. Pouvoir réducteur des extraits méthanolique des feuilles et de jus de *Citrus*

Les extraits de citrus à 1 mg/ml, acide ascorbique à 0,02 mg/ml. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre n'ont pas montré de différence significative ($*P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h > i > j$.

Nos résultats concordent avec des recherches précédentes, notamment celles réalisées par Lagha-Benamrouche et Madani (2013) qui indiquent que les extraits méthanoliques des feuilles du *C. aurantium* sont dotés d'un pouvoir réducteur plus élevé que celui des feuilles de quelques variétés d'orangers douce (*Citrus sinensis*) (Thomson, Washington, Portugaise, Jaffa), une capacité de réduction exprimée en fonction de l'absorbance est de 0,251 à une concentration de 1mg.ml^{-1} .

Zhang et al. (2014) indiquent que les extraits méthanoliques des fruits de *Citrus reticulata* Blanco ont un pouvoir réducteur plus élevé.

Khettal et *al.*, (2017) ont trouvé une capacité réductrice des extraits aqueux de *citrus* par ordre décroissant : *C. limon* > *C. aurantiifolia* > *C. aurantium* > *C. hamlin* > *C. clementina* > *C. navel* > *C. grandis*. La capacité réductrice des extraits méthanoliques de *Citrus* est classée par ordre décroissant : *C. limon* > *C. aurantiifolia* > *C. aurantium* > *C. clementina* $\approx$ *C. Thomson navel* $\approx$ *C. grandis* > *C. hamlin*.

Ehigbai et *al.* (2015) ont montré les concentrés de jus d'agrumes : jus de mandarine, de citron et de lime avaient des valeurs de FRAP nettement inférieures ($179,75 \pm 4,25$, $122,75 \pm 3,25$ et $173,25 \pm 0,25 \mu\text{mol.L}^{-1} \text{Fe(II)/g}$) de l'extrait respectivement, par rapport à l'antioxydant de référence acide ascorbique ($312,88 \pm 5,61 \mu\text{mol.L}^{-1} \text{Fe(II)/g}$) de l'extrait.

Nos résultats indiquent la présence d'une forte corrélation entre le pouvoir réducteur et la présence des flavonoides pour les feuilles ($r = 0,815$) et le jus ($r = 0,791$), respectivement.

La diversité du pouvoir réducteur des extraits est probablement due à la diversité des composés phénoliques présents dans les extraits bruts. L'effet chélateur des ions Fe^{+3} des polyphénols peut être lié aux cycles aromatiques hautement nucléophiles en tant que groupes chélateurs spécifiques présents dans la molécule (Becana et Klucas, 1992) (Figure 22, 23).

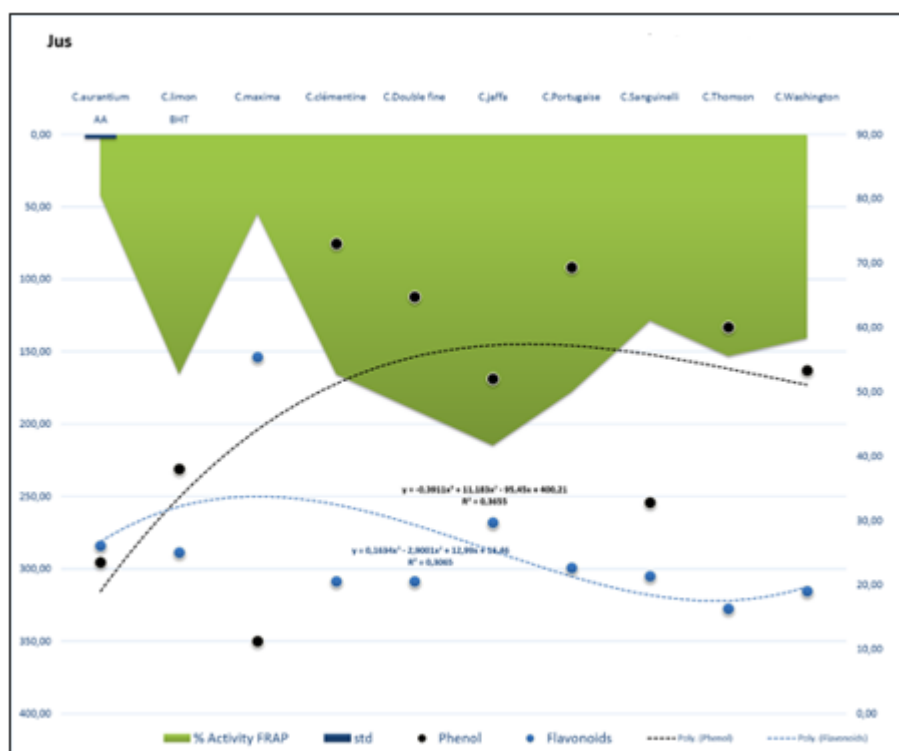


Figure 22. Pourcentage de l'activité antioxydante FRAP par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de jus des différents cultivars étudiés

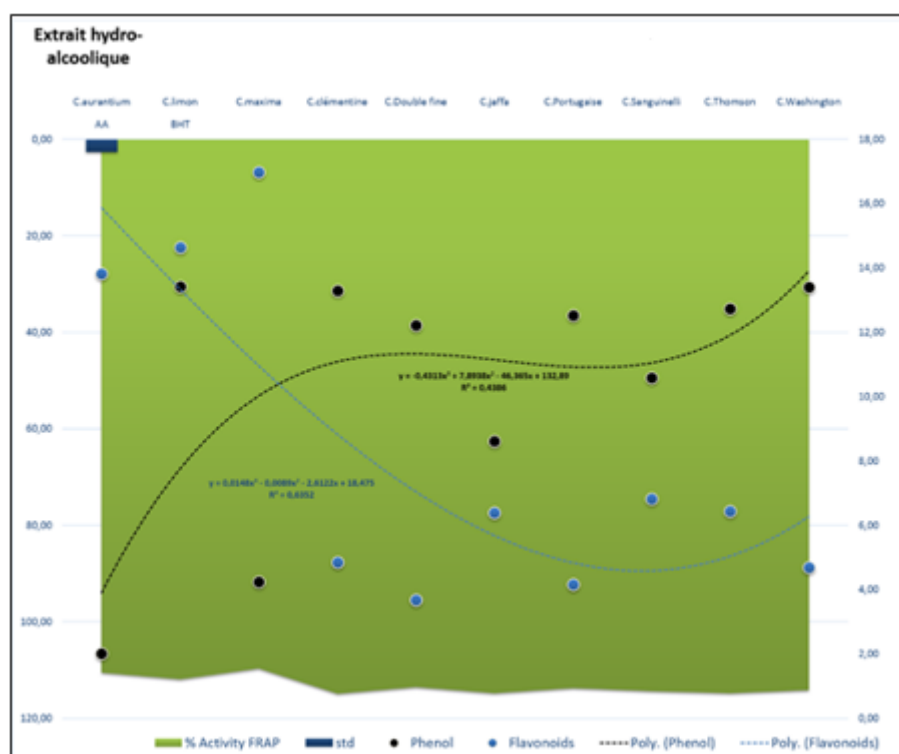


Figure 23. Pourcentage de l'activité antioxydante FRAP par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de feuilles des différents cultivars étudiés

4.1.1.3. Test du blanchissement du β -carotène

La capacité des extraits à inhiber le blanchiment du β -carotène a été mesurée et comparée à celle du témoin positif (BHT) et du témoin négatif qui ne contenait aucun composant antioxydant, la présence d'antioxydants dans les extraits permet de minimiser l'oxydation du β -carotène par les hydro-péroxydes neutralisés (Anusuya et *al.* 2012).

Ce test repose sur l'oxydation de l'acide linoléique, qui, après avoir subi une abstraction d'atomes d'hydrogène des groupes méthylènes diallyliques, produit des radicaux peroxydes. Ces radicaux libres réagissent ensuite avec le β -carotène, un composé fortement insaturé de couleur rouge, provoquant ainsi la décoloration de ce dernier. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait inhiber l'action des radicaux libres issus de l'acide linoléique, ce qui permettrait de prévenir l'oxydation et le blanchiment du β -carotène (Zargar et *al.*, 2011).

Selon nos résultats, le standard testé (BHT) inhibe significativement ($P < 0.05$) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β -carotène à une concentration de 200 $\mu\text{g/ml}$, comparativement aux extraits méthanoliques de *Citrus*, avec un pourcentage d'inhibition de $97,32 \pm 0,29 \%$ (Figure 24).

Parmi les échantillons étudiés des *Citrus*, quelle que soit la partie jus et extraits des feuilles, le bigarade (*Citrus aurantium*) et le pamplemousse (*Citrus maxima*) ont révélé une activité élevée des proportions d'inhibition qui dépassent 80,55 %, suivis par *C. limon* avec des proportions supérieures à 61,11 %.

Alors que le pourcentage de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la variété *Citrus sinensis* (44,44 %) et *Citrus clementine* (58,33 %) est significativement ($P < 0.05$) inférieur à ceux trouvés avec les autres extraits testés.

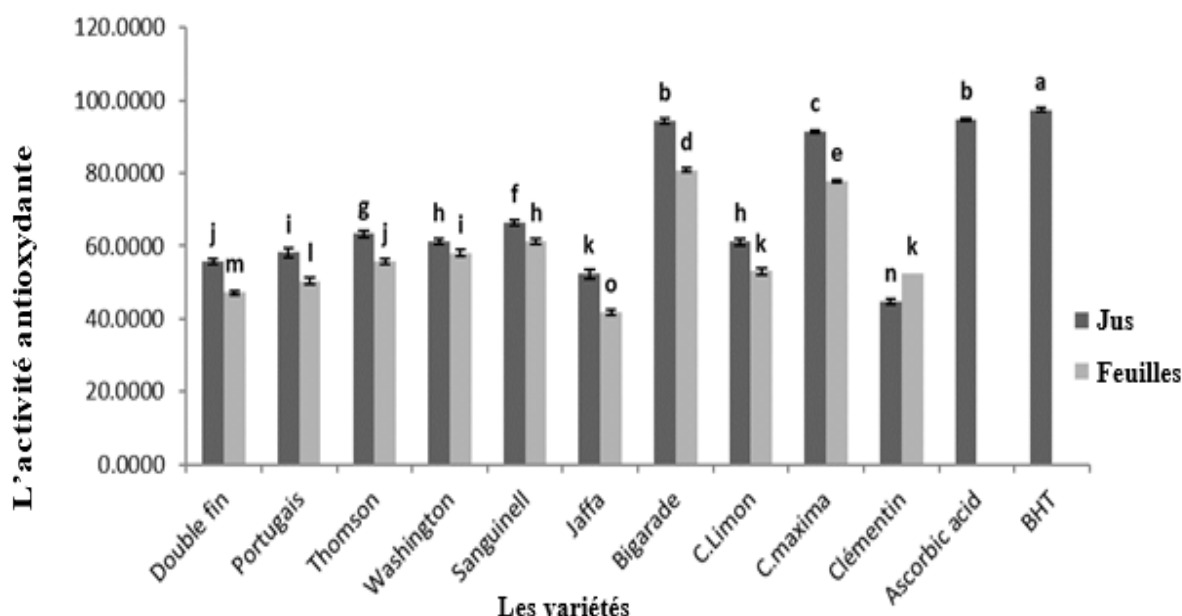


Figure 24. Le pourcentage d'activité antioxydante des extraits des feuilles et de jus de *Citrus*. L'extrait des citrus à 1 mg/ml et BHT à 100 μ g/ml en utilisant le système β -carotène-linoléate. BHT : hydroxytoluène butylé. Les valeurs portant la même lettre n'ont pas montré de différence significative (* $P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h > i > j > k > l > m > n > o$.

D'après Liyana Pathirana et Shahidi (2006), un extrait capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation du β -carotène peut être considéré comme un piègeur de radicaux libres et un antioxydant primaire.

Irkin et al (2015) ont évalué l'activité antioxydante des jus de quatre cultivars *Citrus* orange, citron, pamplemousse et mandarine cultivés en Turquie, ils ont trouvé une capacité antioxydante de 77.15 ± 5.2 %, 58.31 ± 9.6 %, 42.99 ± 12 % et 30.57 ± 2.4 % respectivement, ces valeurs sont supérieures par rapport à nos résultats.

De plus, les agrumes sont riches en carotènes et en cryptoxanthine, la teneur en vitamine A du *Citrus sinensis* Osbeck et du *Citrus reticulata* Blanco peut réagir avec les radicaux libres (en particulier l'oxygène singulet (1O_2) et les radicaux peroxy pour montrer sa propriété antioxydante (Zhou, 2012 ; Amitava et Kimberly, 2014).

Une corrélation positive a été observée entre l'activité antioxydante mesurée par la méthode du β -carotène et la teneur en composés phénoliques totaux ainsi qu'en flavonoïdes (Figures 25, 26), avec des coefficients de corrélation (r) de 0,679 et 0,807, respectivement.

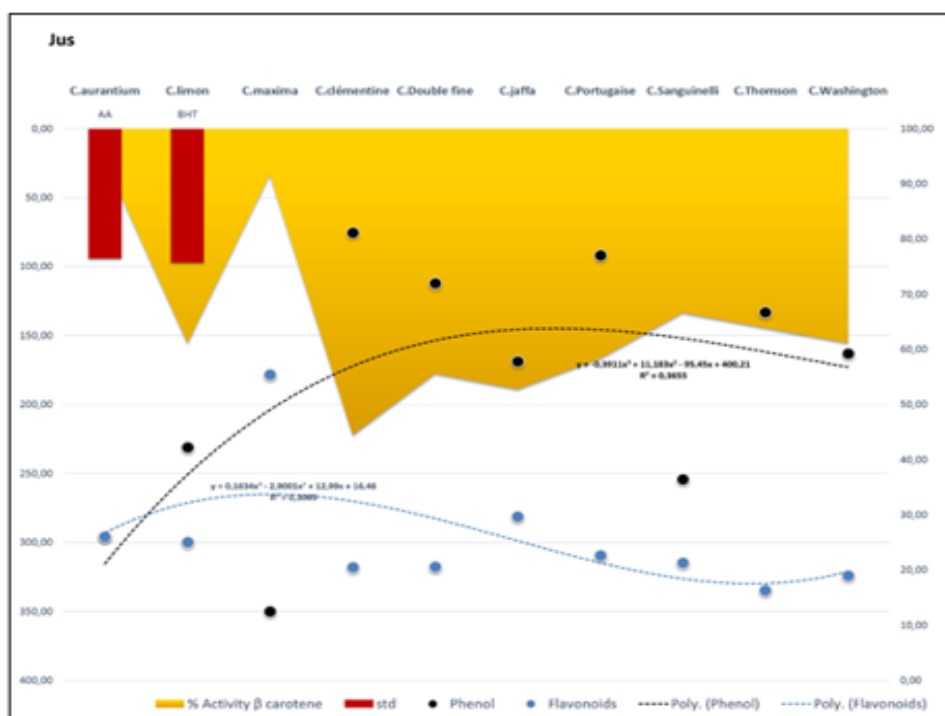


Figure 25. Pourcentage de l'activité antioxydante β -carotène par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes de jus des différents cultivars étudiés.

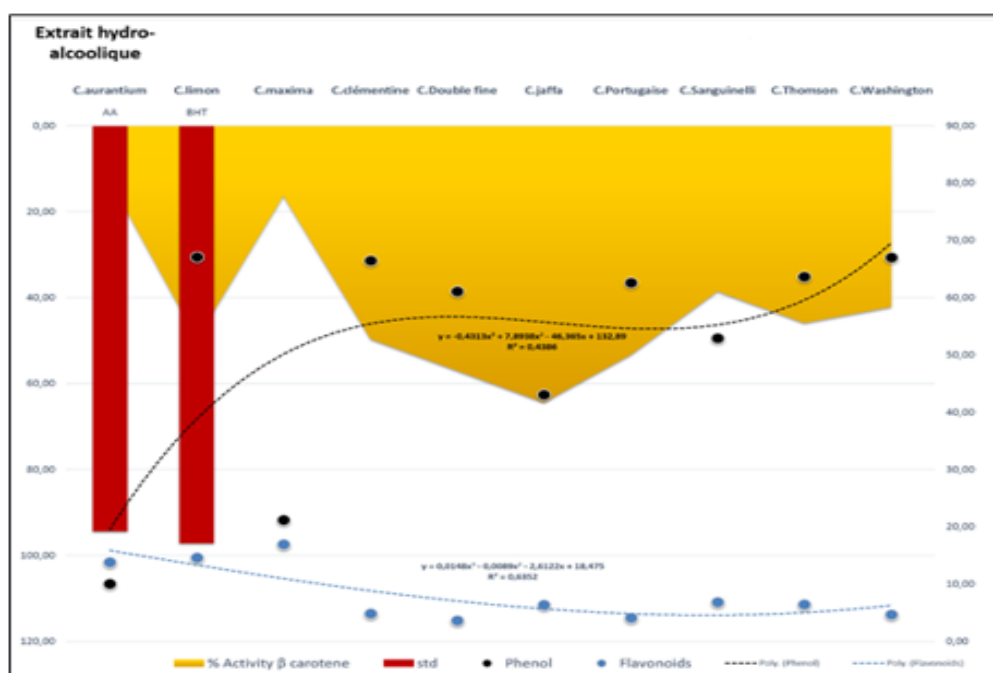


Figure 26. Pourcentage de l'activité antioxydante β -carotène par rapport aux teneurs en phénols totaux et flavonoïdes des extraits de feuilles des différents cultivars étudiés.

4.1.1.4. Corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante requiert de nombreux tests. Toutefois, afin de réduire le temps d'expérimentation et de mettre en place une méthode de sélection objective, nous avons opté pour la comparaison des coefficients de corrélation précédemment identifiés dans notre étude (Figure 27).



Figure 27. Relation entre les différentes activités antioxydantes.

Les composés phénoliques contenus dans les plantes sont d'excellents antioxydants naturels (Wangcharoen et Morasuk, 2007), Nous avons ainsi déterminé les coefficients de corrélation de Pearson (r) entre les diverses méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante et la concentration en phénols totaux des extraits. Une corrélation significative a été constatée entre le test DPPH, le test β -carotène et le test FRAP, avec des coefficients de corrélation de 0,813, 0,933 et 0,819 respectivement, tant pour les jus que pour les extraits.

Hayes *et al.* (2011) ont observé des résultats similaires concernant la corrélation entre le pouvoir anti-radicalaire et le pouvoir réducteur. Selon Singh et Rajini (2020), cette corrélation s'explique par la présence de molécules bioactives possédant de fortes propriétés réductrices et anti-radicalaires.

Plusieurs auteurs ont rapporté des résultats comparables, mettant en évidence une forte corrélation entre les polyphénols totaux et les activités antioxydantes des extraits de plantes (Floegel *et al.*, 2011) notamment les extraits d'espèces de *Citrus* (Jayaprakasha *et al.*, 2008).

4.1.2. Activité antibactérienne des extraits

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de feuilles et de jus de *Citrus* sur les bactéries pathogènes sont présentés dans les tableaux 11 et 12, respectivement. L'effet inhibiteur des extraits varie en fonction des bactéries et du type d'extrait testé (Annexe I).

Les extraits méthanoliques des feuilles et les jus ont démontré des effets d'inhibition différents. Les grandes zones d'inhibition ont été constatées avec les jus des variétés de *Citrus limon* et *Citrus aurantium* (Bigarade) qui ont présenté la plus forte activité antibactérienne puisqu'ils ont inhibé la totalité des isolats bactériens (Gram positif, Gram négatif) de cette étude, avec une zone d'inhibition de $15,00 \pm 1,00$ et $27,66 \pm 0,57$ mm respectivement.

Suivi de *Citrus maxima* (pamplemousse) et de *Citrus clementine* avec des zones d'inhibition comprises entre $12,66 \pm 0,57$ et de $22,66 \pm 1,52$ mm. Pour *Citrus sinensis* ; Thomson, Sanguinelli, Jaffa, Portugais, ils ont montré une activité antibactérienne avec des zones d'inhibition situées entre $13,66 \pm 1,15$ et $22,66 \pm 1,52$ mm.

En revanche, les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus* ont montré une faible activité antibactérienne, inhibant que 05 sur 08 isolats étudiés (Gram positif, Gram négatif) avec des zones d'inhibition allant de $12,66 \pm 0,5$ à $20,00 \pm 1,00$ mm, à l'exception de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *klebsiella*, qui ne présentaient aucune sensibilité à cet extrait.

Micrococcus luteus, s'est avéré la bactérie la plus sensible à l'effet de la plupart des variétés *Citrus aurantium* (Bigarade), *Citrus maxima* (pamplemousse), *Citrus limon*, *Citrus Clementine* et *Citrus sinensis* ; Sanguinelli, Thomson, Washington, Portugese, Double fine, Jaffa, avec des zones d'inhibition allant de $12,66 \pm 0,57$ à $27,66 \pm 0,57$ mm ; suivi par *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* et *Bacillus subtilis* qui sont résistants à quatre extraits, mais sensibles à tous les jus de variétés.

Enterococcus faecalis et *Pseudomonas aeruginosa* ont été sensibles à sept extraits de feuilles et de jus ; contrairement à *Escherichia coli* et *Staphylococcus epidermidis* qui ont montré des résistances à quelques extraits.

Selon les résultats obtenus, les bactéries présentent une réponse variable à l'antibiotique évalué. En effet, les antibiotiques ont démontré un effet inhibiteur sur les bactéries, avec des diamètres des zones d'inhibition variant de $22,20 \pm 0,49$ mm à $30,50 \pm 0,00$ mm. La plus grande zone d'inhibition a été observée avec la gentamycine contre *Klebsiella*.

Lors de la comparaison des moyennes des diamètres d'inhibition des extraits méthanoliques de *Citrus* avec celles des antibiotiques, nous avons observé que les antibiotiques avaient un effet antibactérien plus significative que les extraits examinés.

Tableau.11 Activité antibactérienne des extraits d'agrumes contre les isolats Gram positif mesurée en (mm)

		Zone d'inhibition (mm)				
Cultivars		Micro-organismes (code ATCC)				
		<i>S.aureus</i> 25923	<i>S.epidermidis</i> 12223	<i>B.subtilis</i> 9378	<i>M.luteus</i> 533	<i>E.faecalis</i> 2035
<i>C.sinensis</i> Double fine	Juice	21.66±0.57 ^{bc}	11.,33±0,58 ^{fg}	17.66±1.15 ^c	10.66±0.58 ^j	9.66±0.58 ^g
	Leaves	N.I ⁱ	N.I ^h	N.I ^j	14.16±0.29 ^{fg}	10.66±0.58 ^{fg}
		20.66±1.53 ^{cd}	12.66±0.58 ^{def}	20.00±1.00 ^b	12.66±0.58 ^{hi}	10,00±1.00 ^{fg}
<i>C.sinensis</i> Portugaise	Juice					
	Leaves	N.I ⁱ	N.I ^h	N.I ^j	14.33±0.58 ^{fg}	12.33±0.58 ^{de}
<i>C.sinensis</i> Thomson	Juice	22.66±1.53 ^b	20.66±0.58 ^a	15.00±1.00 ^{de}	13.00±1.00 ^{ghi}	10.33±1.15 ^{fg}
	Leaves	12.66±0.58 ^{fg}	N.I ^h	17.20±0.72 ^c	15.33±0.58 ^{ef}	14.66±0.58 ^{bc}
		19.33±1.53 ^{de}	16.66±0.58 ^b	13.66±0.58 ^{ef}	14.33±1.15 ^{fg}	N.I ^h
<i>C.sinensis</i> Washington	Juice					
	Leaves	N.I ⁱ	N.I ^h	N.I ^j	12.66±0.58 ^{hi}	13.33±1.53 ^{cd}
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli	Juice	10.66±0.58 ^h	10.00±1.00 ^g	13.00±1.00 ^{fgh}	12.33±1.53 ⁱ	12.33±1.15 ^{de}
	Leaves	19.33±0.58 ^{de}	13.00±1.00 ^{de}	13.66±1.15 ^{ef}	15.33±0.58 ^{ef}	13.66±1.53 ^c
<i>C.sinensis</i> Jaffa	Juice	18.33±1.53 ^e	13.33±2.08 ^d	12.00±1.00 ^{ghi}	14.00±1.00 ^{fgh}	12.33±0.58 ^{de}
	Leaves	N.I ⁱ	11.66±0.58 ^{ef}	N.I ^j	16.00±1.00 ^e	13.00±1.00 ^d
<i>C.aurantium</i>	Juice	24.66±1.53 ^a	15.00±1.00 ^c	24.00±1.00 ^a	22.33±0.58 ^b	15.66±0.58 ^b
	Leaves	12.00±1.00 ^{fgh}	13.00±1.00 ^{de}	11.66±0.58 ^{hi}	20.00±1.00 ^c	15.33±1.53 ^b
<i>C.limon</i>	Juice	26.33±1.53 ^a	20.00±1.00 ^a	21.00±1.00 ^b	27.66±0.58 ^a	18.00±1.00 ^a
	Leaves	13.66±0.58 ^f	11.66±0.58 ^{ef}	15.33±1.53 ^d	18.66±0.58 ^{cd}	13.66±0.58 ^{cd}
<i>C.maxima</i>	Juice	21.66±1.15 ^{bc}	13.33±1.53 ^d	13.66±1.15 ^{ef}	23.00±1.00 ^b	13.33±1.53 ^{cd}
	Leaves	11.66±1.15 ^{gh}	N.I ^h	11.33±0.58 ⁱ	16.00±1.00 ^e	11.33±0.58 ^{ef}
<i>C.Clementine</i>	Juice	N.I ⁱ	N.I ^h	12.50±0.50 ^{fgi}	17.66±0.58 ^d	N.I ^h
	Leaves	22.66±1.53 ^b	N.I ^h	13.33±1.53 ^{fg}	15.00±1.00 ^{ef}	12.33±1.53 ^{de}
Standard drug (Gentamycin 25 µg/disc)		22	24	24	23	27

Mm : millimètre (diamètre de la zone d'inhibition), N.I : pas d'inhibition

*Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences ± SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (*P < 0,05), quelle que soit la nature du jus ou des feuilles, pour chaque bactérie. Les résultats sont triés par ordre décroissant : a > b > c > d > e > f > g > h > i > j.*

Tableau.12 Activité antibactérienne des extraits d'agrumes contre les isolats Gram négatif mesurée en (mm).

		Zone d' inhibition (mm)		
Cultivars		Micro-organismes (code ATCC)		
		<i>E.coli</i> 25922	<i>P.aeruginosa</i> 27853	<i>Klebsiella</i> 4352
<i>C.sinensis</i> Double fine	Juice	11.33±1.53 ^{fg}	N.I ^k	20.00±1.00 ^c
	Leaves	N.I ^h	11.83±0.76 ^{hij}	N.I ^h
<i>C.sinensis</i> Portugaise	Juice	10.66±0.58 ^g	12.00±1.00 ^{ghi}	22.33±0.58 ^b
	Leaves	N.I ^h	11.33±0.58 ^{ij}	N.I ^h
<i>C.sinensis</i> Thomson	Juice	14.33±2.08 ^{cd}	13.33±1.15 ^{fg}	18.00±1.00 ^d
	Leaves	17.20±0.72 ^b	12.33±0.58 ^{ghi}	N.I ^h
<i>C.sinensis</i> Washington	Juice	N.I ^h	N.I ^k	23.66±1.15 ^a
	Leaves	N.I ^h	10.50±0.50 ^j	N.I ^h
<i>C.sinensis</i> Sanguinelli	Juice	15.33±0.58 ^c	12.33±0.58 ^{ghi}	10.00±1.00 ^g
	Leaves	12.66±0.58 ^{ef}	15.33±0.58 ^{de}	21.00±1.00 ^c
<i>C.sinensis</i> Jaffa	Juice	10.66±0.58 ^g	13.00±1.00 ^{fgh}	18.33±0.58 ^d
	Leaves	13.00±1.00 ^{de}	14.00±1.00 ^{ef}	N.I ^h
<i>C.aurantium</i>	Juice	12.33±1.15 ^{ef}	22.33±1.53 ^a	23.66±0.58 ^a
	Leaves	11.66±0.58 ^{efg}	14.33±0.58 ^{def}	13.66±0.58 ^e
<i>C.limon</i>	Juice	20.33±1.53 ^a	20.33±1.53 ^b	21.00±1.00 ^c
	Leaves	15.33±1.53 ^c	15.66±0.58 ^d	N.I ^h
<i>C.maxima</i>	Juice	12.33±1.15 ^{ef}	18.33±1.53 ^c	18.66±1.53 ^d
	Leaves	11.33±1.58 ^{fg}	N.I ^k	11.83±0.76 ^f
<i>C.Clementine</i>	Juice	12.50±0.5 ^{ef}	17.83±0.76 ^c	10.50±0.50 ^g
	Leaves	11.33±1.58 ^{fg}	11.00±1.00 ^{ij}	18.33±0.58 ^d
Standard drug (Gentamycin 25 µg/disc)		28	27	30

Mm : millimètre (diamètre de la zone d'inhibition), *N.I* : pas d'inhibition

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative (* $P < 0,05$), quelle que soit la nature du jus ou des feuilles, pour chaque bactérie. Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h > i > j$.

L'analyse statistique a démontré une différence significative ($P < 0,05$) entre l'effet de l'extraits des feuilles et des jus d'agrumes sur les isolats bactériens. Le jus a présenté l'activité antibactérienne la plus élevée.

Hindi et Chabuck. (2013) ont testé les extraits aqueux et le jus de citron sur *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae*. Ils ont constaté que les extraits et le jus de *Citrus limon* présentent la plus forte activité antimicrobienne, puisqu'ils inhibent la majorité des isolats dont les zones d'inhibition sont comprises entre 10 et 35 mm.

Gopal (2012) a démontré que l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Citrus aurantium* (Bigarade) présente un effet inhibiteur sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dont les zones d'inhibition de diamètre sont de $13 \pm 0,14$ mm, $14 \pm 0,12$ mm, $13 \pm 0,14$ mm, $14 \pm 0,21$ mm respectivement. *Enterococcus faecalis* avait des zones d'inhibition à partir de 26 mm pour le concentré de jus de mandarine (Ehigbai et al. 2016).

Ekwenye et Edeha. (2010) ont évalué l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et aqueux de *Citrus sinensis* contre des souches bactériennes comme *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *S. aureus*.

L'effet antibactérien de l'extrait aqueux a montré une zone d'inhibition sur *E. coli*, qui était de 7 mm de diamètre, tandis que sur les autres microorganismes, il a montré peu ou pas de zones d'inhibition allant de 0 à 3 mm de diamètre. L'extrait éthanolique présentait également de petites zones d'inhibition sur les organismes testés, allant de 1 à 3 mm de diamètre.

Une étude similaire a été menée par Hamdan et al. (2013) sur l'activité antimicrobienne des extraits de l'écorce du fruit et de la feuille de la mandarine égyptienne. Les résultats ont révélé que tous les extraits testés avaient une activité antibactérienne modérée contre les bactéries, notamment *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumonia* et *P. aeruginosa*.

On a aussi, des études réalisées par Adnan et al. (2014) pour les extraits méthanoliques de feuilles de *C. sinensis* et de *Citrus paradisi* avaient des activités antimicrobiennes contre des souches spécifiques, notamment *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *E. coli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Salmonella typhimurium* et *Enterobacter aerogens*.

Belguedouze et Khlefa. (2020) ont observé que l'extrait flavones-flavonols présente une activité antimicrobienne significative contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre dépassant 20 mm et des concentrations minimales d'inhibition (CMI) respectives de 382, 150, 382 µg/ml et 380 µg/ml.

Des nombreuses études permettent d'affirmer que les mécanismes antibactériens des flavonoïdes comprennent principalement : l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, l'inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique en influençant la formation de biofilms, les porines, la perméabilité et en interagissant avec certaines enzymes cruciales (Barbieri et al., 2017 ; Khameneh et al., 2019).

Dans la présente étude, le jus d'agrumes s'est révélé être l'agent le plus efficace contre toutes les bactéries testées, suivi par les extraits de feuilles. Le fait que le degré de sensibilité des microorganismes testés varie peut-être dû à la tolérance intrinsèque des micro-organismes et à la nature et aux combinaisons des phytoconstituants présents dans l'extrait.

Un ou plusieurs des phytoconstituants courants comme les alcaloïdes, les tanins, les phénols, les glycosides, les flavonoïdes et les acides ont déjà été signalés dans certains de ces extraits actifs. Ces principaux phytoconstituants sont connus pour avoir une activité antimicrobienne (Górniak et al., 2019).

4.2. Activités biologiques (*in vivo*)

4.2.1. Etude de toxicité

Après l'administration des doses comprises entre 100 à 1000 mg/kg PC et 0.1 à 5 ml/kg pour l'extrait méthanolique des feuilles et des jus respectivement de deux variétés *Citrus maxima* et *Citrus aurantium* par voie orale, les différents signes de toxicité sont regroupés dans le tableau 14.

Tableau 14. Comportement, signes de toxicité et taux de mortalité chez les rats traités avec des doses croissantes de l'extrait des feuillettes et des jus des citruses

	C.aurantium							C.maxima							Contrôle	
	Extrait				Jus			Extrait				Jus				
	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	Cm	Cm	Cm	Cm	Cm	Cm	Cm	Cm	
	1	2	3	4	1`	2`	3`	1	2	3	4	1`	2`	3`		
Comportement normale	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	
Démarche anormale	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	
Activité réduite	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	
Difficulté de respiration	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	
Diarrhée		-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	
Taux de mortalité	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25%	0	0	25%	0	

Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ ES de cinq rats par groupe. Ca-1, Ca-2, Ca-3 et Ca-4 : groupes traités avec l'extrait des feuilles de *Citrus aurantium* à des doses de 100, 250, 500 et 1000 mg/kg PC et Ca-1'Ca-2'Ca-3' : groupes traités avec les jus de *Citrus aurantium* à des doses de 0.5, 1 et 5 ml/kg PC respectivement. Cm-1, Cm-2, Cm-3 et Cm-4 : groupes traités avec l'extrait des feuilles de *Citrus maxima* à des doses de 100, 250, 500 et 1000 mg/kg PC et Cm-1' Cm-2' Cm-3' : groupes traités avec les jus de *Citrus maxima* à des doses de 0.5, 1 et 5 ml/kg PC respectivement. Le groupe contrôle reçoit seulement de l'eau durant l'expérimentation.

Aucun signe de toxicité n'a été enregistré au cours du traitement ou de la période d'observation chez les groupes traités quel que soit les extraits ou les jus avec des doses testées de la variété de *Citrus aurantium* ; mais, les rats traités par *C. aurantium* à une dose de 1000 mg/kg ont présenté une réduction de l'activité locomotrice, le salivage et une diarrhée.

Le groupe contrôle n'a présenté aucune anomalie. Les décès n'ont pas été observés dans aucune des doses testées, étant donné qu'il n'est pas possible de calculer le niveau DL50. En revanche, à la dose de 500 et 1000 mg/kg PC de l'extrait de *Citrus maxima* et à 5 ml/kg PC du jus du *Citrus maxima*, les rats ont présenté des troubles et des signes de toxicité qui ont conduit à la mort de 25% de rats. D'après ce taux de mortalité enregistré, et selon la formule de Dragstedt et Lang, (1957), la DL50 de l'extrait de *Citrus maxima* est de 5 g/kg PC.

4.2.2. Activité hypocholestérolémiant

Nos résultats révèlent les effets comparatifs des variétés de jus et l'extrait des feuilles d'agrumes sur le cholestérol, les triglycérides, les HDL cholestérol, LDL cholestérol et VLDL à différentes doses, chez des animaux ayant reçu un régime alimentaire riche en cholestérol pendant 90 jours (Tableau 15).

L'étude de l'activité hypolipidémique de ces plantes a donné lieu à de multiples constatations : l'analyse des effets biologiques des jus d'agrumes et des extraits de feuilles sur le profil lipidique a révélé une réduction statistiquement significative du cholestérol total sérique avec une réduction modérée des triglycérides sériques, LDL cholestérol, VLDL accompagnée d'une élévation significative des niveaux de HDL cholestérol sériques par rapport au lot de contrôle.

4.2.2.1. Les analyses des paramètres lipidiques

Dans cette étude, chez les rats du groupe témoin, un régime riche en cholestérol (1 %) entraîne une augmentation significative ($P < 0,05$) des concentrations sériques du TC ($263,86 \pm 15,56$ mg/dl), TG ($191,32 \pm 18,02$ mg/dl), LDL ($191,13 \pm 14,40$ mg/dl) et VLDL ($38,26 \pm 3,60$ mg/dl) et on observe une diminution significative ($P < 0,05$) du taux de HDL ($34,46 \pm 5,00$ mg/dl), comparativement au groupe témoin qui a reçu d'une alimentation standard et dont les valeurs respectives sont de $126,76 \pm 14,01$, $111,35 \pm 24,64$, $59,35 \pm 15,71$, $45,144 \pm 3,54$ et $22,27 \pm 4,92$ mg/dl.

Les jus et les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus maxima*, *Citrus aurantium* et *Citrus Limon* entraîné une réduction très hautement significative ($P < 0,0001$) de la concentration du cholestérol total TC, les valeurs respectives sont de 119.61 ± 3.89 mg/dl 134.39 ± 3.21 mg/dl, 133.94 ± 2.72 mg/dl, 153.95 ± 5.33 mg/dl et 168.74 ± 6.66 mg/dl 190.74 ± 5.08 mg/dl par rapport à la concentration de TC du lot de contrôle.

Les jus et les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus sinensis* Var : Thomson a provoqué aussi une diminution significative ($P < 0,05$) de la concentration du TC (182.50 ± 4.54 , 193.67 ± 5.48). En revanche, le jus et l'extrait des feuilles de *Citrus Clémentine* diminuent non significativement ($P > 0,05$) la concentration des TC 206.44 ± 7.89 , 233.28 ± 8.75 mg/dl respectivement.

Tandis que, dans le lot de référence, l'atorvastatine provoque une diminution très hautement significative ($P < 0,0001$) de la concentration de TC avec une valeur de 158.1 ± 18.90 mg/dl.

La diminution des triglycérides était très significative ($p < 0,0001$) après 30 jours par rapport au groupe de contrôle. Les niveaux de TG avec les jus et les extraits des feuilles ont été observés respectivement par rapport aux témoins : *Citrus maxima* (78.22 ± 3.97 mg/dl, 87.36 ± 1.59 mg/dl) ; *Citrus aurantium* (83.84 ± 3.52 mg/dl, 93.38 ± 3.06 mg/dl) ; *Citrus limon* (102.16 ± 4.45 mg/dl 117.44 ± 3.26 mg/dl).

En revanche, Les niveaux des TG avec les jus et les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus sinensis* Var : Thomson (128.16 ± 2.35 mg/dl 134.42 ± 3.81 mg/dl) et avec ceux de *Citrus Clémentine* (151.38 ± 2.77 mg/dl, 146.62 ± 3.80) diminuent non significativement ($P > 0,05$) la concentration des TG.

En revanche, les lipoprotéines de faible densité (LDL) transportent le cholestérol du foie vers les tissus périphériques, tandis que les lipoprotéines de haute densité (HDL) favorisent le déplacement du cholestérol des tissus périphériques vers le foie pour sa dégradation.

Ainsi, le HDL joue un rôle bénéfique dans la diminution du cholestérol tissulaire, tout en abaissant le niveau de LDL, ce qui contribue à réduire le risque de maladies cardiovasculaires (Nofer et al., 2002).

Les résultats du tableau 15 montrent une diminution significative au niveau des concentrations des LDL par rapport à la concentration des LDL dans le lot de contrôle.

L'effet des jus d'agrumes et des extraits de feuilles sur le taux de HDL cholestérol plasmatique est présenté dans le tableau 15. Bien que la concentration plasmatique de cholestérol HDL ne diffère pas entre les groupes, le rapport entre le cholestérol HDL et le cholestérol total était significativement ($p < 0,05$) plus élevé dans tous les groupes traités par les jus d'agrumes et d'extraits de feuilles par rapport au groupe de contrôle.

Les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus maxima*, *Citrus aurantium* et *Citrus Limon* et leurs jus entraînant une réduction significative ($P < 0,05$) de la concentration sérique des VLDL dans les lots traités, les concentrations sont de 18.67 ± 0.61 , 17.47 ± 0.31 ; 23.48 ± 0.65 , 16.76 ± 0.70 et 15.64 ± 0.79 , 20.43 ± 0.89 mg/dl respectivement, par rapport au lot de contrôle (38.26 ± 3.60 mg/dl) (Tableau 15).

Alors que l'administration des extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus sinensis* Var : Thomson et *Citrus Clémentine* et leurs jus induisent une diminution non significative ($P > 0,05$) des concentrations des VLDL avec des valeurs respectives de 26.88 ± 0.76 , 30.27 ± 0.55 mg/dl et 25.63 ± 0.47 , 29.32 ± 0.76 mg/dl.

Le même résultat a été constaté dans le lot de référence après l'administration de l'atorvastatine, la concentration sérique des VLDL est de 25.10 ± 2.46 mg/dl (tableau 15).

L'indice athérogène du plasma est un nouvel indice composé de triglycérides et de cholestérol à lipoprotéines de haute densité. Il a été utilisé pour quantifier les taux de lipides sanguins et couramment utilisé comme indicateur optimal de dyslipidémie et de maladies associées (par exemple, les maladies cardiovasculaires) (Bora et al., 2017).

On a constaté une diminution significative ($p < 0,05$) de l'indice athérogène chez les rats auxquelles on a administré du jus d'agrumes et des extraits de feuilles par rapport au groupe de contrôle.

Tableau 15. Résultats du dosage des différents paramètres lipidiques (TC, TG, HDL LDL et VLDL) des lots

Groups	Dose (mg/kg)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDLc (mg/dl)	LDLc (mg/dl)	VLDLc, (mg/dl)
Lot témoin		126.76±14.018 ^{ab}	111.35±24.64 ^{de}	45.144±3.54 ^d	59.35±15.71 ^b	22.27±4.92 ^f
Lot de contrôle		263.86±15.56 ⁱ	191.32±18.02 ^j	34.46±5.00 ^e	191.13±14,40 ⁱ	38.26±3.60 ^o
<i>C.sinensis Thomson</i>						
Jus	7	167.90±1.51 ^d	128.16±2.35 ^f ^g	52.94±3.76 ^b	89.33±4.01 ^{de}	25.63±0.47 ⁱ
Extrait	250	184.62±5.24 ^{ef}	134.42±3.81 ^{gh}	52.48±4.42 ^b	105.25±2.70 ^{fg}	26.88±0.76 ^j
<i>C.sinensis Sanguinelli</i>						
Jus	7	182.50±4.54 ^e	141.64±1.18 ^{hi}	51.06±2.54 ^{bc}	103.11±4.33 ^{fg}	28.32±0.23 ^l
Extrait	250	193.67±5.48 ^f	141.58±6.14 ^{hi}	52.02±3.40 ^{bc}	113.34±5.57 ^g	28.31±1.22 ^k
<i>C. aurantium</i>						
Jus	3	133.94±2.72 ^b	83.84±3.52 ^{ab}	58.66±4.93 ^a	58.51±2.58 ^b	16.76±0.70 ^b
Extrait	200	153.95±5.33 ^c	93.38±3.06 ^{bc}	59.12±1.65 ^a	76.15±3.91 ^c	18.67±0.61 ^d
<i>C.maxima</i>						
Jus	0.5	119.61±3.89 ^a	78.22±3.97 ^a	61.1±4.76 ^a	42.87±4.06 ^a	15.64±0.79 ^a
Extrait	150	134.39±3.21 ^b	87.36±1.59 ^{ab}	60.76±1.75 ^a	56.16±2.69 ^b	17.47±0.31 ^c
<i>Citrus Limon</i>						
Jus	3	168.74±6.66 ^d	102.16±4.45 ^{cd}	51.24±7.89 ^{bc}	97.06±4.89 ^{ef}	20.43±0.89 ^e
Extrait	250	190.74±5.08 ^{ef}	117.44±3.26 ^{ef}	60.78±4.73 ^a	106.48±1.56 ^{fg}	23.48±0.65 ^g
<i>C.Clementine</i>						
Jus	7	206.44±7.88 ^g	146.62±3.80 ⁱ	48.14±5.88 ^{bcd}	128.97±13.74 ^h	29.32±0.76 ^m
Extrait	250	233.28±8.75 ^h	151.38±2.77 ⁱ	46.92±3.25 ^{cd}	156.08±7.08 ⁱ	30.27±0.55 ⁿ
Atorvastatin	10	158.1±18.90 ^{cd}	125.52±12.31 ^{fg}	47.93±3.84 ^{bcd}	85.06±18.47 ^{cd}	25.10±2.46 ^h

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne de trois expériences ± SD. Les valeurs portant les mêmes lettres n'ont pas montré de différence significative (*P< 0,05).

Les résultats sont triés par ordre croissant : a < b < c < d < e < f < g < h < i < j < k < l < m < n.

4.2.2.2. Analyse des coupes histologiques

L'histologie du foie des groupes contrôle montre une architecture normale des cellules hépatiques en travées séparées les unes des autres par les capillaires sinusoides, un cytoplasme granuleux et préservé avec une veine centro-lobulaire clairement visible (Figure 28).

Chez le groupe dyslipidémique, on remarque une désorganisation des travées hépatocytaires qui présentent un cytoplasme clair avec la présence des micro et des macro-vésicules lipidiques qui entoure la veine centro-lobulaire, séparées les unes des autres par des capillaires sinusoides qui sont dilatés. On remarque la présence de plusieurs types de cellules immunitaires notamment les monocytes et les lymphocytes.

Les rats traités à l'atorvastatine ont présenté une amélioration de la morphologie cellulaire, une architecture normale des cellules, mais des hépatocytes à noyaux condensés ont été observés, tandis que les rats traités avec les *Citrus* ont acquis un profil histopathologique distinct quasi normal.

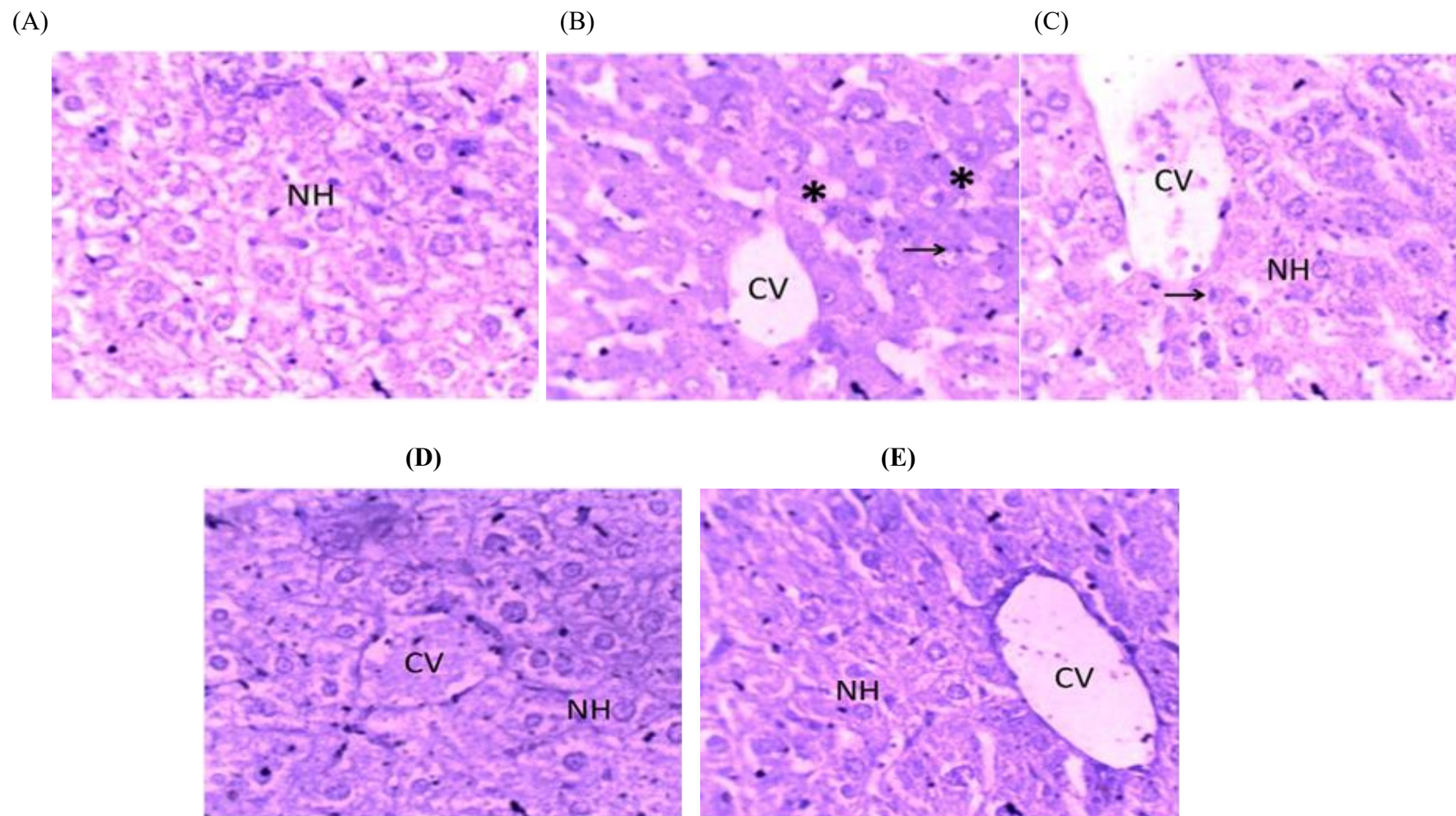


Figure 28. Etude histologique du parenchyme hépatique des rats colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (4 à 5 μ m, X 400).

(A) le groupe contrôle normal ; (B) Contrôle HFD ; (C) HFD + Atorvastatine (10 mg/kg PC.) ; (D) groupe traite avec les jus ; (E) groupe traite avec l'extrait des feuilles. NH - Hépatocytes normaux, CV - Veine centrale, * - Modifications graisseuses et $\longrightarrow$ noyau condensé.

Ces résultats sont en accord avec les conclusions de Karam et *al.* (2018) qui ont trouvé l'infiltration cellulaire et la dégénérescence dans les cellules du foie des rats testées.

De nombreux facteurs de risque cardio-métabolique tels que l'hypercholestérolémie et le diabète favorisent la survenue des maladies cardiovasculaires, qui constituent un problème majeur de santé publique.

Des études sur des modèles animaux ont clairement démontré que l'hypercholestérolémie est liée à des anomalies dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines plasmatiques, se traduisant par des concentrations élevées en cholestérol total, C-LDL et triglycérides et des teneurs réduites en C-HDL (Benaicheta et *al.*, 2016 ; Djellouli et *al.*, 2019).

De même, chez le rat, la consommation d'un régime enrichi en cholestérol est étroitement associée à l'hyperlipidémie progressant vers la stéatose hépatique (Athmani et *al.*, 2015).

L'existence d'une relation étroite entre les niveaux accrus de cholestérol et les altérations métaboliques, oxydatives et inflammatoires, conduit à considérer les plantes et/ou leurs extraits, à la fois hypolipémiants (Zidan et *al.*, 2016 ; Bahlil et *al.*, 2018) et comme des compléments nutritionnels de choix dans la stratégie de prévention des maladies cardiovasculaires.

Par conséquent, il est intéressant de savoir si l'extrait méthanolique des feuilles et les jus des *Citrus* possèdent également une activité hypolipémiante chez le rat dyslipidémique ou hypercholestérolémie.

Nos résultats indiquent que, chez le groupe non traité, une hypercholestérolémie s'est installée à la fin de l'expérimentation ($263,86 \pm 15,56$ mg/dl) par rapport à la valeur notée au début de l'expérimentation ($126,76 \pm 14,01$ mg/dl) et à celle rapportée chez le rat (valeur normo cholestérolémique < 250 mg/dl par Pandya et *al.* (2006).

Cela suggère que la supplémentation du régime en cholestérol (1 % de cholestérol et 0,5 % d'acide cholique) a induit en 14 jours une hypercholestérolémie chez le rat.

Chen et al. (2015) ont considéré ce régime hypercholestérolémique comme un facteur de risque pour les maladies cardiovasculaires (MCV) et ont également montré que la supplémentation du régime avec du cholestérol (de 0,5 % à 1 %) augmente les niveaux de cholestérol total (CT) sérique et hépatique, ainsi que les concentrations en C-VLDL et en C-LDL. Ce régime hypercholestérolémique a permis d'induire une hypercholestérolémie similaire à celle observée par plusieurs auteurs (Lassoued et al., 2014 ; Ktari et al., 2015).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Khan et al. (2010) où ils ont noté que le jus de *Citrus limon* (1ml/kg/jour) a révélé une réduction significative du cholestérol sérique, des triglycérides, des niveaux de lipoprotéines de basse densité et a entraîné une augmentation des lipoprotéines de haute densité. Ces résultats suggèrent que les effets hypocholestérolémiques du jus de citron peuvent être dus à son effet antioxydant.

Lin et al. (2019) ont montré que l'administration orale des jus des *Citrus* entraînait une réduction des taux de triglycérides plasmatiques de manière dose-dépendante, ce qui pourrait être dû à la capacité des flavonoïdes d'agrumes à inhiber la sécrétion hépatique d'apolipoprotéine (apo)B.

L'étude de Oboh et al. (2014) ont montré que l'administration des jus de *Citrus maxima* à des rats soumis à un régime riche en cholestérol a entraîné une réduction significative des taux plasmatiques de cholestérol total, de triglycérides et de cholestérol des lipoprotéines de basse densité, ainsi qu'une augmentation des niveaux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité.

De même, Mallick et Khan. (2015) ont noté une diminution très significative des taux de cholestérol, de TG et de LDL à des doses de 0,1, 0,3 et 0,5 ml/kg de *Citrus paradisi* de 74.18, 66.23 et 53.5g/l respectivement par rapport aux témoins hyperlipidémiques, presque similaire à l'effet de l'atorvastatine.

De plus, Jianping et al. (2019) ont examiné l'effet des flavonoïdes totaux purs provenant de *Citrus* sur des rats atteints d'hyperlipidémie et ont constaté que les flavonoïdes jouent un rôle hypolipidémique grâce à l'amélioration de la fonction hépatique par des effets antioxydants dans l'hyperlipidémie.

Firdous et *al.* (2021) montrent que la diminution du cholestérol total a été constatée à un rythme comparable à celui de l'atorvastatine (10 mg) dans les groupes de souris auxquelles ils ont administré 200 mg de flavonoïdes de *Citrus maxima* diosmine (DS).

Il est intéressant de noter qu'avec 100 mg de DS, ils ont également constaté une réduction significative du cholestérol total. Ces résultats ont été confirmés par l'amélioration des taux de TG, C-HDL, C-LDL et C-VLDL par rapport à l'hyperlipidémie chez les souris.

Ali et *al.* (2020) ont trouvé que la consommation de jus de pamplemousse pendant 40 jours à différentes doses (0,5, 1, 1,5 ml / jour) a diminué les concentrations de cholestérol total, de C- LDL et de triglycérides, tandis que le C-HDL a augmenté chez les rats ayant subi une hypercholestérolémie.

Effectivement, l'hypercholestérolémie est définie par une augmentation des niveaux de LDL-cholestérol (LDL-C) et de triglycérides (TG), qu'il y ait ou non une diminution du niveau de HDL-cholestérol (HDL-C) (Hao et Friedman, 2015).

Ces facteurs pro-athérogènes qui favorisent la formation de la plaque athéromateuse sont en partie à l'origine des anomalies du métabolisme des acides gras (AG) et des triglycérides (TG) au sein du foie et du tissu adipeux (Orekhov et *al.*, 2014). Lorsqu'ils sont présents en excès, ces derniers accélèrent les échanges inter-lipoparticules par l'intermédiaire de la CETP (protéines de transfert des esters de cholestérol) au dépend des fractions LDL et HDL dans le sang.

Ces changements quantitatifs sont responsables d'une réduction de la concentration de HDL-cholestérol et de la formation de LDL, petites et denses, beaucoup plus athérogènes (Parraga-Martinez et *al.*, 2015).

La réduction du HDL-cholestérol est également favorisée par l'activation de la lipoprotéine lipase hépatique stimulée par l'hyperinsulinisme et le taux élevé d'acides gras libres. Ces mécanismes contribuent à expliquer le profil lipidique athérogène caractéristique du syndrome métabolique (Singh et Bittner, 2015).

Les résultats obtenus montrent que les extraits de feuilles et les jus des différentes variétés de *Citrus* testés possèdent une activité hypocholestérolémiante, liée à la présence de biomolécules qui réduisent le taux de cholestérol sanguin.

Cette activité pourrait résulter de l'action individuelle ou de l'effet synergique des composés phénoliques. Le mécanisme considéré pourrait impliquer la régulation de l'hydrolyse de certaines lipoprotéines, ainsi que leur absorption sélective et leur métabolisme par divers tissus. (Oboh et *al.*, 2014).

De même, les flavonoïdes, retrouvés lors de notre étude phytochimique des espèces d'agrumes étudiées après l'analyse d'HPLC sont : l'hespéridine, la naringine, la narirutine et l'ériocitrine trouvées dans les espèces (*Citrus maxima*, *Citrus sinensis*, *Citrus limon*, *Citrus clemntine*) et néohespéridine (*Citrus aurantium*), pourraient avoir un effet hypolipémiant, en diminuant la biosynthèse du cholestérol, par l'augmentation de l'expression de la protéine-kinase AMPc dépendante, enzyme responsable de l'inhibition de l'hydroxyméthyl-glutarl-Coenzyme A (HMG-CoA) réductase (Iskender et *al.*, 2017) .

Rekha et *al.* (2019), ont démontré que chez les rats, la naringine et l'hespéridine réduisent de manière significative les taux plasmatiques et hépatiques de cholestérol et de TG en inhibant l'HMG-CoA réductase et l'acyl-CoA : cholestérol acyltransférase (ACAT).

De plus la naringénine inhibe le cholestérol acyltransférase et les protéines microsomaux de transfert des triglycérides, ce qui limite la disponibilité des esters de cholestérol et des triglycérides pour la formation des lipoprotéines (Mahmoud, et *al.*, 2019).

4.2.3. Evolution de la glycémie et test de tolérance au glucose chez les groupes diabétiques

4.2.3.1. Variation de la glycémie au cours du traitement

Quatre jours après injection d'alloxane, la valeur de la glycémie représente $301,02 \pm 17,96$ mg/dl, chez les groupes diabétiques traités ou non par rapport au contrôle ($97,31 \pm 9,76$ mg/dl). Ces résultats permettent de confirmer l'installation du diabète.

Quatorze jours après (J14), la glycémie diminue de 47%, chez le groupe traité par les jus ou extrait des feuilles des *Citrus aurantium* et *Citrus maxima* dont les valeurs sont de $129,14 \pm 6,21$, $139,53 \pm 7,03$ mg/dl et $98,74 \pm 3,87$, $113,65 \pm 5,34$ mg/dl respectivement.

Après 28 jours de traitement, une diminution très hautement significative des teneurs du glucose dans le sang est notée chez les groupes traités par le jus et l'extrait de feuilles du *Citrus maxima* ($79,27 \pm 3,72$ et $109,46 \pm 5,71$ mg/dl respectivement) (Tableau 17 Annexe II).

Même effet a été observé chez les groupes des rats traités par le jus et l'extrait méthanolique de la variété de *Citrus limon*, une diminution hautement significative de taux de glucose dont les valeurs sont $131,76 \pm 5,13$ et $135,41 \pm 7,11$ respectivement. De plus, l'effet du *Citrus* est similaire à celui de la metformine avec une valeur de $99,13 \pm 9,99$ mg/dl.

4.2.3.2. Test de tolérance au glucose

Les résultats de l'activité hypoglycémique des différents extraits testés sur des rats hyperglycémiques sont illustrés dans le tableau 16. L'administration per os de l'eau physiologique n'affecte pas la glycémie de base des rats normo-glycémiques. Le glucose sanguin reste en effet stable au bout de 2 heures d'observation ($0,80 \pm 0,01$ vs $0,82 \pm 0,02$ g/l) ($p > 0,05$).

Chez le groupe de rat hyperglycémique, l'administration d'une dose de 4g/kg du glucose par voie orale entraîne une augmentation significative de la glycémie au bout de 90 minutes. Cette augmentation est de l'ordre de 83,33 % ($0,84 \pm 0,01$ à $1,54 \pm 0,01$ g/l) ($p < 0,05$).

Tableau.16 Variation de la tolérance au glucose en fonction du temps après le traitement des rats avec les différents types d'extraits et des jus de *Citrus*

Temp s (mn)	La glycémie (g/l)						
	Témoins NaCl	Témoins hyperglycémiques	Témoins metformine	<i>C. aurantium</i> 200mg/kg	<i>C.aurantium</i> 3ml/kg	<i>C.maxima</i> 150 mg/kg	<i>C.maxima</i> 0.5ml/kg
0min	0,8±0,01	0,84±0,01	0,81±0,01	0,82±0,01	0,82±0,01	0,83±0,01	0,81±0,01
30min	0,82±0,01	1,14±0,01	0,94±0,02*	1,12±0,02	1,16±0,14	0,98±0,01*	1,01±0,01*
60min	0,81±0,01	1,4±0,01	1,04±0,01*	1,2±0,007*	1,16±0,01*	1,14±0,01*	1,19±0,01**
90min	0,84±0,01	1,54±0,01	0,52±0,01*	0,99±0,007	0,90±0,01*	0,58±0,01*	0,73±0,01***
120min	0,82±0,01	1,2±0,02	0,34±0,01*	0,62±0,007	0,66±0,01*	0,42±0,002	0,40±0,01**

Chaque valeur correspond à la Moyenne $\pm$ E.S.M. Test de Student *0,05>p >0,01 la différence est significative, ** P

Chez le groupe de rats prétraités avec le metformine à la dose de 2,5 mg/kg, on assiste à une diminution significative de la glycémie de 58,02% par rapport aux témoins hyperglycémiques au bout de 2 heures d'administration ($0,81 \pm 0,01$ vs $0,34 \pm 0,01$ g/l) ($P < 0,05$).

Les jus et les extraits des *Citrus maxima* et *Citrus aurantium* ont diminué fortement la glycémie chez les rats traités avec des concentrations respectives de $0,83 \pm 0,01$ g/l à $0,42 \pm 0,02$ g/l et de $0,81 \pm 0,01$ à $0,40 \pm 0,01$ g/l ($p < 0,05$). La même observation est notée quant à l'effet du glucophage sur la teneur de la glycémie des rats traités ($0,81 \pm 0,01$ vs $0,34 \pm 0,01$ g/l).

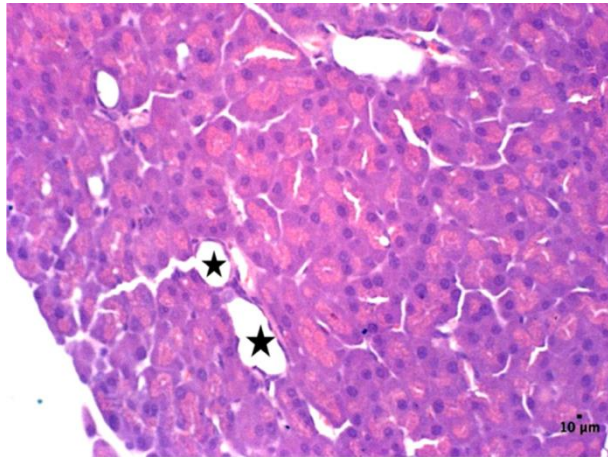
4.2.3.3. Etude descriptive histologique

Après 4 semaines d'expérimentation, l'histologie du pancréas des rats soumis à l'alloxane (150 mg/kg PC), montre une importante nécrose cytoplasmique et une dégénération des îlots de Langerhans, alors que les acini sont intacts (Photo. A) (Figure29).

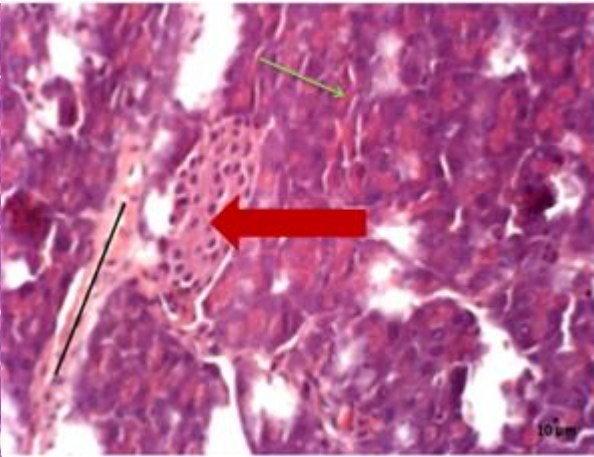
Cependant, chez ces rats diabétiques, la surface spécifique du tissu des îlots se rétrécit par rapport à celle observée chez le groupe contrôle (Photo. A), ce qui confirme l'induction du diabète.

Le traitement par les *Citrus*, montre une régénération et une augmentation du système vasculaire des cellules des îlots, ainsi qu'une légère nécrose cytoplasmique (Photo D et F). Tandis que, une conservation cellulaire d'îlots chez le groupe traité par la metformine, est révélée (Photo C).

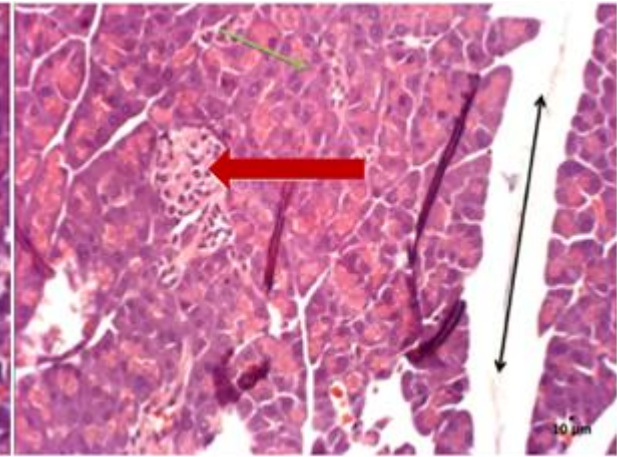
(A)



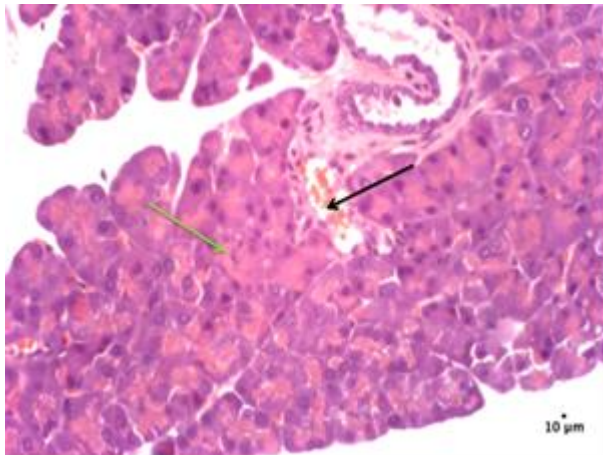
(B)



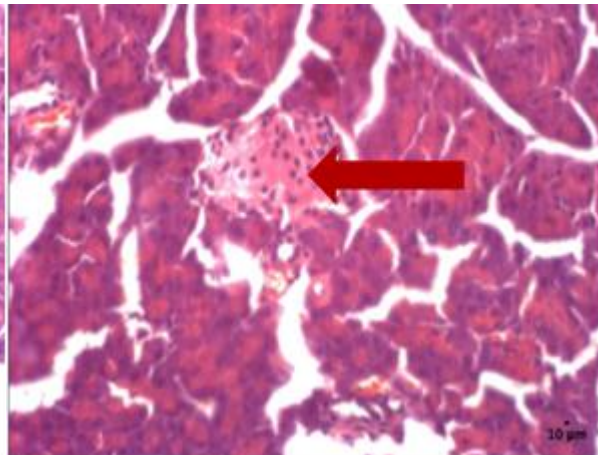
(C)



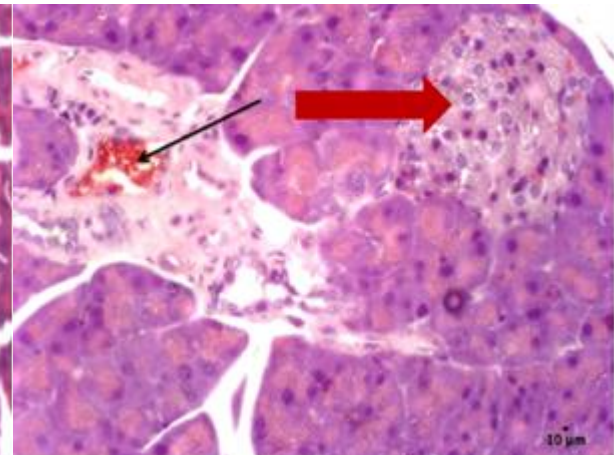
(D)



(E)



(F)



(G)

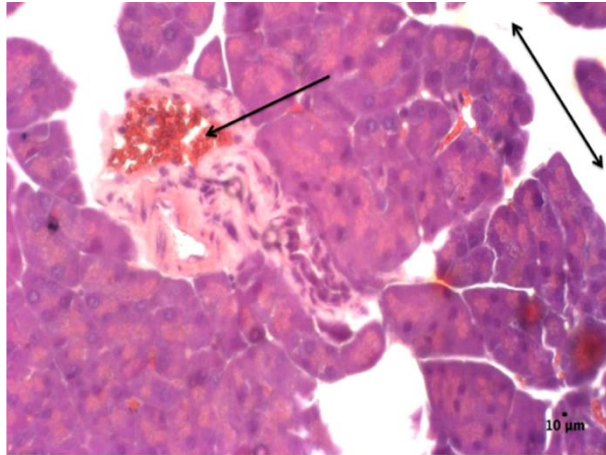


Figure 29. Observation microscopique des coupes histologiques du pancréas colorées avec l'Hématoxyline-Eosine (4 à 5 μ m, X 400).

A: groupe diabétique non traité, B : groupe contrôle consomme durant toute l'étude le régime (Cas) (Non diabétique) C: groupe diabétique traité avec Metformine (D-MTF). D groupe diabétique traité avec extrait C.maxima .E : groupe diabétique traité avec jus C.maxima. F : groupe diabétique traité avec extrait C.aurantium. G : groupe diabétique traité avec jus C.aurantium.

→ La flèche rouge épaisse représente les îlots de Langerhans ; l'étoile représente les îlots détruits, **↔** la double flèche représente le canal interlobulaire, la flèche verte **→** indique les cellules acineuses pancréatiques et la flèche noire **→** représente l'infiltration de neutrophiles. Grossissement : x200. La barre d'échelle fait 10 mm.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Yusuf et *al.* (2019) qui ont démontré que l'examen histologique du pancréas des rats hyperglycémiques a montré une réduction des îlots de Langerhans avec du tissu fibrotique alors que les rats hyperglycémiques traitées avec les *Citrus* étaient similaires aux rats témoins.

L'extrait aqueux de feuilles de cédrat (*Citrus maxima*) a la capacité d'améliorer les dommages initiés par l'hyperglycémie sur le pancréas des rats.

Des résultats comparables ont été obtenus par Abunasef et *al.* (2014) ; Qinna et Badwan. (2015) qui ont trouvé une nécrose dans l'îlot de Langerhans induite par STZ ou alloxane ; de même, des changements dégénératifs cytoplasmiques au centre et à la périphérie de l'îlot de Langerhans, une forme irrégulière, une vaculation dans le cytoplasme et une fibrose marquée avec destruction des cellules β chez les rats diabétiques.

Des études récentes ont démontré que les changements cellulaires dans les îlots de Langerhans ont été trouvés chez les rats, reflétaient la cytotoxicité de l'alloxane sur les cellules β en raison de la génération d'espèces réactives de l'oxygène augmentant la peroxydation lipidique, l'oxyde nitrique et les ruptures d'ADN.

En outre, l'hyperglycémie exerce des effets délétères sur la fonction des cellules β du pancréas (Helal et *al.*, 2020).

Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui ont rapporté des propriétés antidiabétiques des agrumes.

Les résultats, obtenus dans notre étude, sont en accord avec ceux de Dokumacioglu et *al.* (2018), en effet, l'administration journalière des flavonoïdes (hespéridine et quercétine) réduisent le taux de glycémie.

Cette baisse des résidus de glucose circulant est accompagnée d'une diminution significative du taux d'HbA1c et d'une augmentation de l'insulinosécrétion. Ceci serait dû à un effet protecteur contre la dégénérescence et une stimulation de l'activité des cellules β pancréatiques, sécrétrices d'insuline (Demir, 2018).

Kundusen et *al.* (2011) ont montré que l'extrait de *Citrus limon* avait une puissante activité anti-hyperglycémique contre des rats diabétiques induits par la streptozotocine.

Les taux élevés de glucose sanguin et de l'HbA1c chez les rats diabétiques ont été ramenés à des niveaux proches de la normale après traitement par les flavonoïdes diosmine de *Citrus*, ce qui montre son potentiel antihyperglycémique dans le traitement du diabète expérimental (Subramani et Leelavinothan 2013).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Riaz et *al* (2013) ; Mallick et Khan (2015), sur les flavonoïdes extraits respectivement de *Citrus limon*, *Citrus maxima* et *Citrus sinensis* ; ils ont supposé que les flavonoïdes, peuvent être dotés de propriétés stimulantes sur la libération de l'insuline et seraient donc à l'origine de l'effet hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques et antihyperglycémiant chez des rats présentant un diabète de type 2.

Ainsi, nos résultats concordent avec ceux obtenus par Loizzo et *al* (2019) qui ont rapporté que le jus de *Citrus lemon* diminue la glycémie avec une augmentation significative des niveaux d'insuline, chez le rat rendu diabétique par la STZ.

En outre, l'effet bénéfique de l'extrait des feuilles de *Citrus aurantium* sur l'hyperglycémie serait probablement lié à la composition en polyphénols. Sutar et *al.* (2018) ont rapporté que l'administration orale de flavonoïdes (hespérétine et naringénine) pendant 45 jours diminue la glycémie chez les rats diabétiques.

4.2.4. Etude des paramètres du stress oxydant

Il est admis que les agrumes notamment les feuilles et les jus constituent une source importante des antioxydants naturels en particulier les polyphénols, raison pour laquelle plusieurs études sur l'effet antioxydant des agrumes représente un facteur clé pour évaluer leurs effets et comprendre leurs mécanismes d'action.

Les jus et l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus* ont été évalués pour leur effet sur les paramètres du stress oxydant associé à la dyslipidémie au niveau hépatique qui constitue un siège de tous les métabolismes.

4.2.4.1. Evaluation de la peroxydation des lipides par la mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La Figure 30 représente la variation du taux hépatique en MDA chez des rats sains et rendus dyslipidémiques traités ou non par les jus et les extraits méthanoliques des feuilles des agrumes.

On a observé une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) du taux du MDA hépatique chez les rats dyslipidémiques témoins par rapport aux rats contrôles. Cette augmentation est de l'ordre de $2,18 \pm 0,28$ nmol vs $1,44 \pm 0,05$ nmol.

Toutefois, après un traitement par les jus des *Citrus maxima* (pamplemousse), *Citrus aurantium* (bigarade) et *Citrus limon* (citron), nous avons enregistré une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) des taux du MDA hépatique chez les rats dyslipidémiques traité par rapport aux rats contrôles ; les valeurs sont de $1,10 \pm 0,08$ nmol, $1,10 \pm 0,13$ nmol et $1,29 \pm 0,22$ nmol vs $2,18 \pm 0,28$ nmol respectivement.

Le même effet est observé quant au traitement des rats dyslipidémiques par les extraits des feuilles de même variétés *Citrus maxima* (pamplemousse), *Citrus aurantium* (bigarade), avec un pourcentage de diminution de 70,31% ($1,28 \pm 0,05$ nmol, $1,46 \pm 0,16$ nmol vs $2,18 \pm 0,28$ nmol).

Par contre, l'extrait de feuille de *Citrus limon* provoque une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du taux du MDA hépatique par comparaison aux rats contrôles ($0,98 \pm 0,23$ nmol vs $2,18 \pm 0,28$ nmol).

(A)

(B)

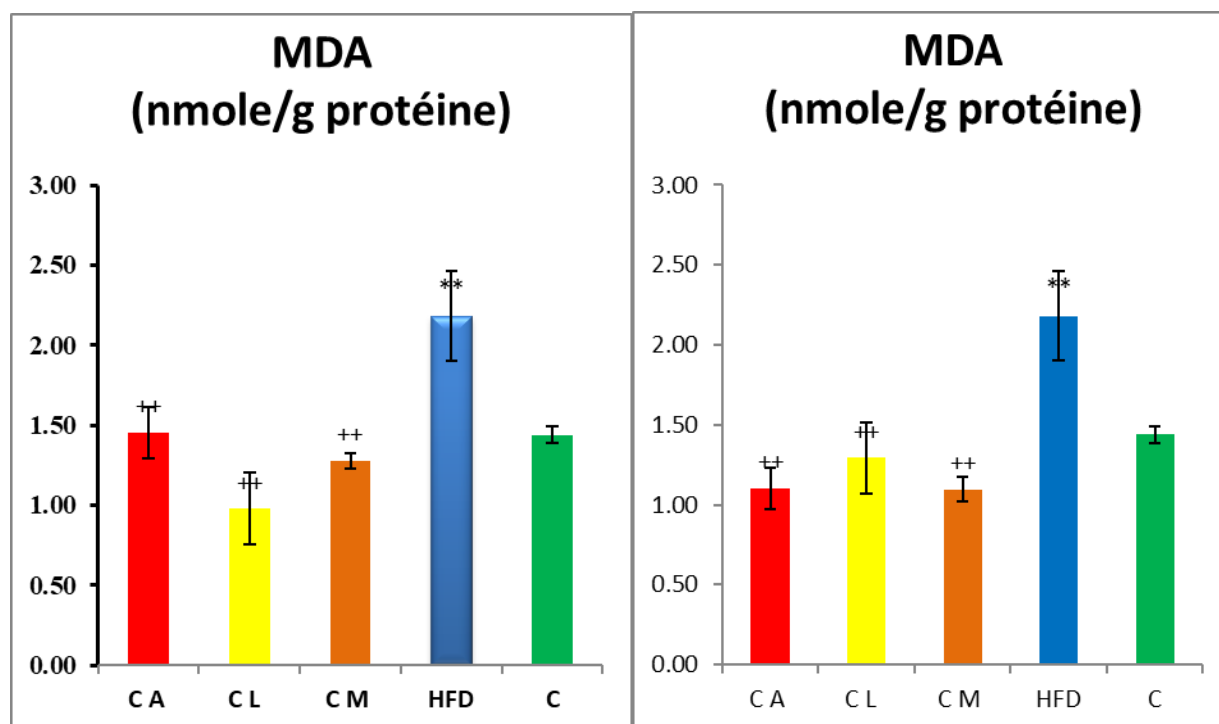


Figure 30. Influence de l'effet des jus et des extraits des feuilles des agrumes sur la concentration hépatique du MDA.

CA: Traité par *Citrus aurantium*; CL: Traité par *Citrus Imon*; CM: Traité par *Citrus maxima*; HFD: Dyslipidémique; C : ntrôle. (A) les jus ; (B) les extraits des feuilles. Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SEM ($n=5$). * $p \leq 0.05$, HFD vs C; ** $p \leq 0.001$, HFD vs C; + $p \leq 0.05$, traités vs HFD; ++ $p \leq 0.001$, traités vs HFD.

4.2.4.2. Effet des jus et l'extraits des feuilles sur l'activité des enzymes antioxydantes et sur le statut antioxydant total (TAS)

Les résultats de l'effet des jus et les extraits de feuilles de *Citrus maxima*, *Citrus aurantium* et *Citrus limon* sur l'activité des enzymes antioxydantes et sur le statut antioxydant total chez les cinq groupes étudiés sont illustrés dans la figure 31 et 32.

Nous avons remarqué une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) de l'activité de la SOD, la GPx, et la GRx chez les rats dyslipidémiques par rapport aux rats contrôles dont les valeurs sont : $62,23 \pm 1,32$ et $1,31 \pm 0,07$ et $13,13 \pm 1,11$ U/g HB vs $269,43 \pm 1,07$ et $4,06 \pm 0,21$ et $19,64 \pm 0,68$ U/g HB respectivement.

Cette réduction est de l'ordre de 66,83%. Cependant, le traitement des rats par les jus de *Citrus maxima*, *Citrus aurantium* et *Citrus limon* ont provoqué une augmentation très hautement significative ($P < 0,001$) de l'activité de la superoxyde dismutase hépatique (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), et la glutathion réductase (GRx) par rapport à celle des rats du groupe contrôle (figure 41).

Un effet similaire est observé quant au traitement des rats dyslipidémiques par les extraits méthanoliques des feuilles de mêmes variétés *Citrus maxima* et *Citrus limon*. Chez les rats dyslipidémiques traités par ces variétés comparées aux rats contrôles, l'activité de la superoxyde, dismutase (SOD) augmente significativement ($p < 0,01$) dont les valeurs sont : $165,75 \pm 2,46$ et $104,91 \pm 10,95$ U/g HB vs $62,23 \pm 1,32$ U/g HB respectivement.

Ces résultats restent légèrement inférieurs par rapport à ceux trouvés chez le lot de rats traités par la variété *Citrus aurantium* avec laquelle nous avons enregistré une augmentation du taux de la SOD très hautement significative ($P < 0,001$) dont la valeur est de $278,84 \pm 9,00$ vs $62,23 \pm 1,32$ U/g HB.

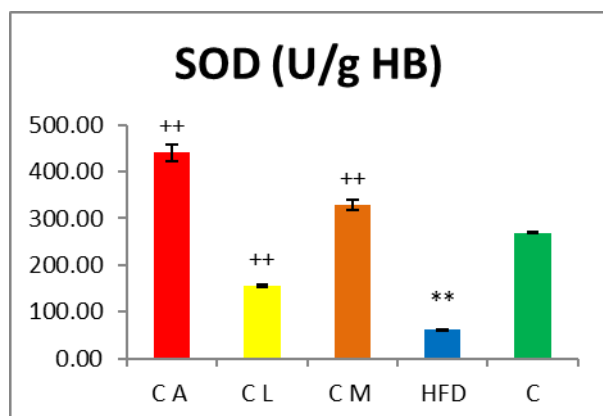
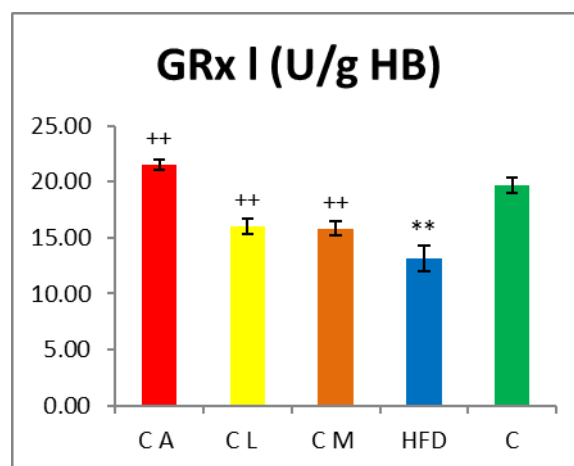
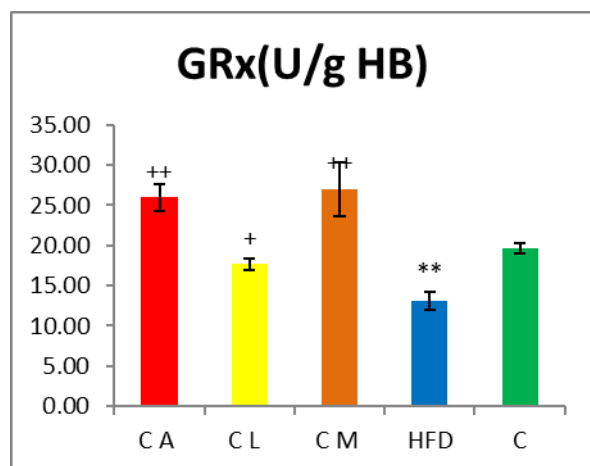
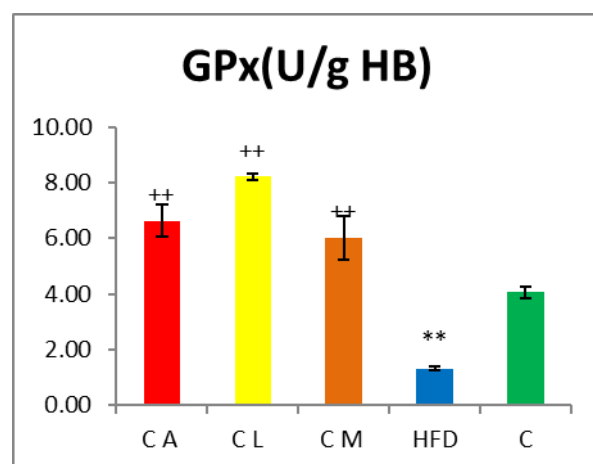
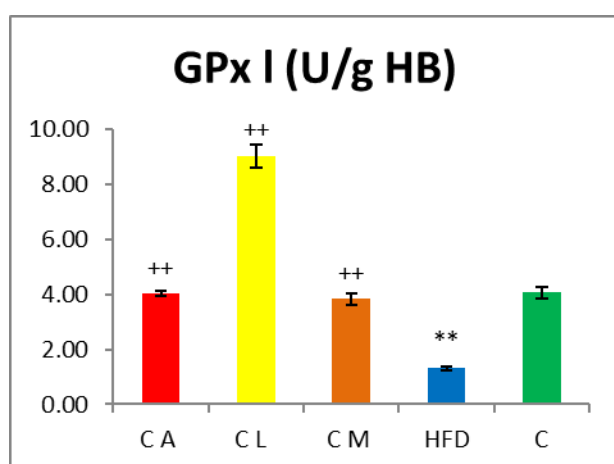
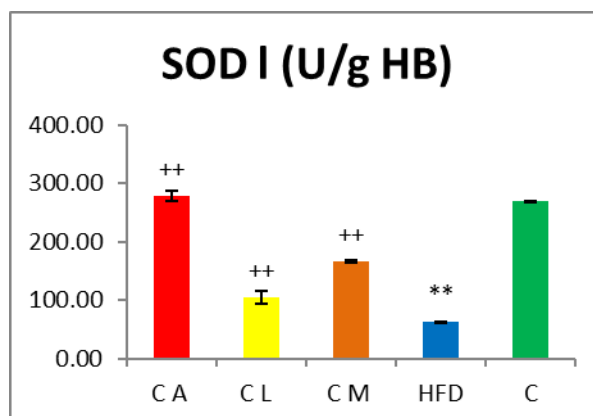
A**B**

Figure 31. Effet des jus et des extraits de feuilles des agrumes sur l'activité des enzymes antioxydant

CA: Traité par *Citrus aurantium*; CL: Traité par *Citrus limon*; CM: Traité par *Citrus maxima*; HFD: Dyslipidémique; C : Contrôle. (A) les jus ; (B) les extraits des feuilles. Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SEM (n=5). * $p \leq 0.05$, HFD vs C; ** $p \leq 0.001$, HFD vs C; + $p \leq 0.05$, traités vs HFD; ++ $p \leq 0.001$, traités vs HFD.

Le traitement par les extraits semble avoir mieux amélioré l'activité de la SOD hépatique, la GPx, et la GRx par comparaison aux rats du groupe contrôle. Par ailleurs, le TAS est réduit (40,66%) chez le groupe dyslipidémique par rapport au groupe contrôle (Figure 42).

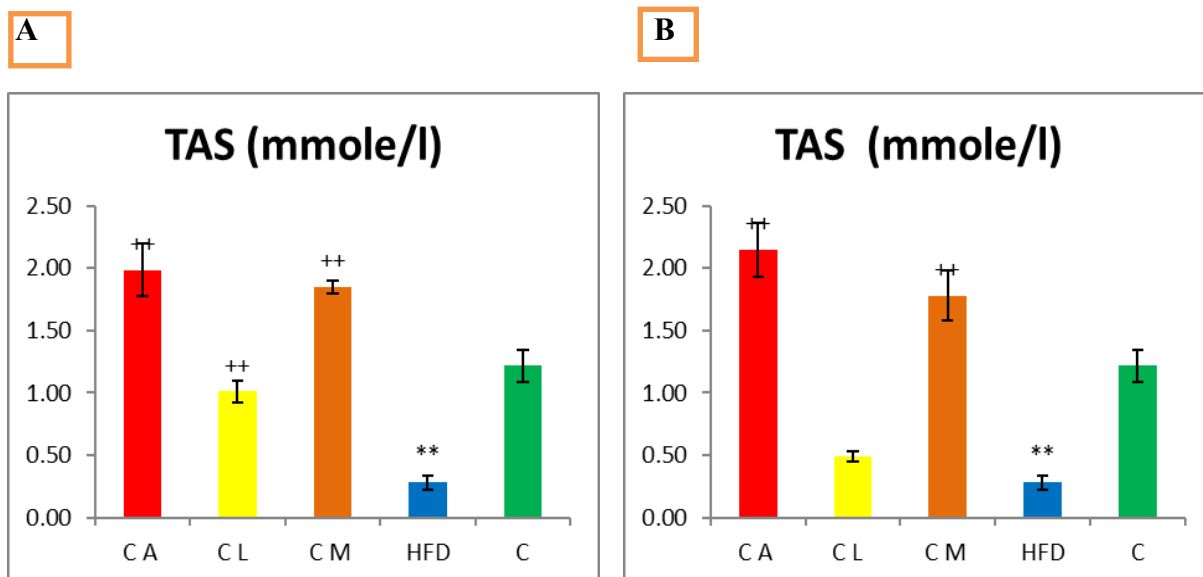


Figure 32. Effet des jus et des extraits de feuilles des agrumes sur le statut antioxydant total (TAS)

CA: Traité par *Citrus aurantium*; CL: Traité par *Citrus limon*; CM: Traité par *Citrus maxima*; HFD: Dyslipidémique; C : Contrôle. (A) les jus; (B) les extraits des feuilles. Chaque valeur représente la moyenne $\pm$ SEM ($n=5$). * $p \leq 0.05$, HFD vs C; ** $p \leq 0.001$, HFD vs C; + $p \leq 0.05$, traités vs HFD; ++ $p \leq 0.001$, traités vs HFD.

Les résultats de notre étude suggèrent que les flavonoïdes présents dans les feuilles d'agrumes ainsi que leurs possèdent des propriétés chémoprotectrices cellulaires pourvus d'un pouvoir antioxydant jouant un rôle crucial contre les effets nocifs des radicaux libres. Cela explique le maintien du taux de MDA à son niveau cytosolique normal dans le foie des rats traités.

Par ailleurs, des études ont montré que l'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie sont responsables d'un stress oxydant associé à un état d'insulinorésistance. L'activité des ROS peut provoquer la peroxydation lipidique, ce qui entraîne ensuite la glycation des protéines, l'inactivation des enzymes et l'altération de la structure et de la fonction des biomembranes, jouant ainsi un rôle clé dans les complications à long terme de la dyslipidémie (Baynes, 1991).

Dans ce cas, le stress oxydant coexiste avec la réduction du statut antioxydant ce qui peut augmenter l'effet délétère des radicaux libres (Zahra et *al.*, 2012).

L'hypercholestérolémie et le diabète, peuvent être à l'origine d'un stress oxydant délétère, pour les cellules concernées et leurs fonctions vasculaires (Matsuda, et Shimomura, 2013 ; Gouaref et *al.*, 2016).

En effet, de nombreux auteurs concordent pour affirmer que l'hypercholestérolémie est liée à la détérioration du statut antioxydant, caractérisée par une augmentation des teneurs en malondialdéhyde (MDA) et une diminution des activités des enzymes antioxydantes (Asdaq, 2015). Il est communément admis que le stress oxydant est impliqué dans la plupart des maladies métaboliques dégénératives comme le diabète et l'hypercholestérolémie (Bonomini et *al.*, 2015 ; Asmat et *al.*, 2016).

Le stress oxydant durant le diabète et l'hypercholestérolémie inclut un déséquilibre de la balance redox provenant de l'altération du métabolisme des carbohydrates et des lipides, de l'augmentation de la production des espèces réactives à l'oxygène (ROS) par glycation, de la peroxydation lipidique et de la diminution de la défense des antioxydants (Ellulu et *al.*, 2016).

La peroxydation lipidique est un marqueur essentiel du stress oxydant et elle est évaluée par la mesure des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).

Chez le rat hypercholestérolémique ayant reçu un traitement par l'extrait méthanolique des feuilles ainsi que par les jus de *Citrus*, le système de défense antioxydante présente une efficacité accrue au niveau hépatique. En conséquence, cet extrait a la capacité de diminuer la peroxydation des lipides et de prévenir les lésions causées par le stress oxydatif.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Zaidun et *al.* (2018) et Feksa et *al.* (2018) sur les flavonoïdes extraits respectivement de feuille de *Citrus maxima* et *Citrus limon* ; ils ont supposé que la naringénine est principalement attribuée à la réduction des ROS et à l'amélioration des défenses antioxydantes, notamment la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) dans les maladies chroniques.

De plus, des études réalisées par Karim et *al.*, 2018 ; Mahmoud, et *al.* (2019) ; chez des rats rendus stressés par l'acétate de plomb et traités par l'héspérétine ont montré une efficacité antioxydante significative, mise en évidence par la diminution de la peroxydation lipidique et l'augmentation des niveaux de GSH et de l'activité de SOD, CAT et GPx.

Les principales enzymes antioxydantes endogènes sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx). La SOD convertit les radicaux superoxydes en H_2O_2 , qui est catalysé en H_2O par l'action de la catalase et/ou de la GPx. Cette dernière enzyme peut également être le donneur d'électrons pour réduire la peroxydase. Alors que la SOD et la GPx sont exprimées de manière ubiquitaire (Hussain et *al.*, 2018),

Notre recherche indique que les flavonoïdes des feuilles et des jus de Citrus maintiennent l'équilibre de la balance pro/antioxydante des cellules hépatiques en réduisant leur exposition aux dommages oxydatifs engendrés par le régime riche en cholestérol. En plus de son effet hypoglycémiant et hypolipémiant, l'extrait des feuilles et des jus de Citrus joue un rôle déterminant dans la défense antioxydante, en diminuant la peroxydation lipidique et en augmentant les activités de certaines enzymes antioxydantes.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Le diabète et les maladies cardiovasculaires contribuent massivement au défi mondial que représentent les maladies chroniques. Les relations de cause à effet, entre l'alimentation et le développement des maladies chroniques telles que, l'hypertriglycéridémie, l'hypercholestérolémie, l'obésité, l'hypertension artérielle et facteurs de risque des maladies cardiovasculaires, deviennent de plus en plus évidents.

Les dernières décennies ont été marquées par un intérêt croissant pour les plantes médicinales, perçues comme une source de substances bioactives naturelles, dans le cadre de la recherche de traitements plus doux et sans effets secondaires.

De ce fait, l'objectif principal de cette thèse est de chercher une nouvelle approche thérapeutique dans la prévention du diabète ou de l'hypercholestérolémie et de leurs complications associées.

Dans le présent travail, on s'intéresse à deux axes. Le premier porte sur l'évaluation de l'aspect nutritionnel et de la valorisation phytochimique des jus et des extraits des feuilles de *Citrus L*, tandis que le deuxième, il concerne la mise en évidence, en premier lieu, de l'activité antibactérienne et antioxydante (*in vitro*), et en deuxième lieu, de l'évaluation *in vivo* de l'activité antidiabétique sur les rats rendus diabétiques par l'alloxane et l'activité antioxydante et anti dyslipidémique induite par un régime riche en cholestérol, chez le rat mâle wistar

Dans la première partie de cette investigation, on a opté pour l'extraction par macération, en utilisant le méthanol. Les résultats obtenus de l'extraction indiquent que le méthanol est, qualitativement et quantitativement, un meilleur solvant d'extraction d'antioxydants. En effet, quel que soit l'espèce du *Citrus* utilisée, les jus sont plus riches en antioxydants de nature polyphénolique, principalement flavonoïdique, que l'extrait méthanolique.

Les résultats des analyses nutritionnelles ont montré que *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Citrus limon*, *Citrus maxima* et *Citrus clémentine* contenaient un taux très élevé de glucides et un taux faible de protéines, de lipides et de fibres.

Le dosage des phénols totaux et des flavonoïdes montre une différence dans les teneurs, d'une plante à une autre. Les teneurs les plus élevées en phénols totaux dans les jus et les extraits des feuilles (350.05 ± 13.21 et 91.76 ± 3.83 mg Eq AG/ g) et en flavonoïdes (55.38 ± 0.36 et 16.98 ± 0.16 mg Eq Q/ g) ont été trouvées chez *Citrus maxima* ; Par contre les teneurs les plus basses ont été trouvées dans les jus et l'extrait des feuilles de *Citrus clémentine*.

L'analyse de plusieurs extraits par l'HPLC a permis la détection de la Narirutine (Nrt), Naringenine (Ngn), Hesperidine (Hsp), Quercétine (Qrt) et Eriocitrine (Ert) dans les jus de la plupart des variétés à des quantités différentes. La diosmine et l'eriocitrine ont été détectées dans les extraits hydro-alcooliques des feuilles des *Citrus maxima* et *Citrus sinensis*.

L'évaluation de l'effet antioxydant des extraits méthanoliques des feuilles et des jus à travers la mesure de l'activité anti-radicalaire (test DPPH et β -carotène) a montré que cet effet est meilleur dans les jus que dans les extraits méthanoliques et ce, quel que soit l'espèce du *Citrus*.

La meilleure activité anti-radicalaire a été observée dans les jus et les extraits de *C. maxima* et *C. aurantium* avec des IC50 piégeant le radical DPPH de 0.42 ± 0.023 0.51 ± 0.005 mg/ml et 0.44 ± 0.032 , 0.57 ± 0.016 mg/ml, et une faible concentration, pouvant inhiber 50 % du DPPH, a été enregistrée dans l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Citrus sinensis* dont l'IC50 est de 1.05 ± 0.052 mg/ml.

Néanmoins, la quasi-totalité des espèces du genre *Citrus* révèle un pouvoir réducteur (test FRAP) de même ordre de grandeur au niveau des jus ou des extraits méthanolique de leurs feuilles. Toutefois, l'activité réductrice signalée au niveau des jus de *citrus maxima*, et qui est largement inférieure à celle de la BHT, présente le plus fort taux réducteur

À partir des résultats obtenus sur l'activité antioxydante des différents extraits et jus des plantes, on déduit que les composants actifs, telles la quercétine, la Naringenine et l'Hesperidine, sont capables de piéger les radicaux libres et de réduire les oxydants.

L'activité antibactérienne des extraits étudiés a révélé des diamètres d'inhibition atteignant jusqu'à 27.00 ± 1.0 mm pour les jus et ne dépassant pas les 18.00 ± 00 mm pour les extraits hydro-alcooliques. Cette activité pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques, tels que la naringénine, reconnue pour ses propriétés antibactériennes.

Dans la deuxième partie de ce travail, on a évalué d'une part, l'activité préventive des extraits flavonoïques de *Citrus* en cas de dyslipidémie et de stress oxydatif induit par un régime riche en cholestérol chez le rat mâle wistar, d'autre part, l'activité antidiabétique de ces extraits chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane.

Les résultats observés ont montré en premier lieu que la supplémentation du régime riche en cholestérol (1% de cholestérol et 0,5% d'acide cholique) a permis de provoquer, en 15 jours, une hypercholestérolémie chez le rat Wistar.

Après 90 jours de traitement, l'étude de l'activité hypolipidémique de ces plantes a donné lieu à de multiples constatations : l'analyse des effets biologiques des jus et des extraits de feuilles du *Citrus*, sur le profil lipidique, a révélé une réduction statistiquement significative du cholestérol total sérique avec une réduction modérée des triglycérides sériques, LDL cholestérol, VLDL accompagnée d'une élévation significative des niveaux d'HDL cholestérol sérique par rapport au lot de contrôle,

Les jus et les extraits hydro-alcooliques des feuilles de *Citrus maxima*, *Citrus aurantium* et *Citrus Lemon* ont provoqué une diminution hautement significative ($P < 0,0001$) de la concentration du cholestérol total TC par rapport du lot de contrôle.

De même, l'étude histologique réalisée sur le groupe dyslipidémique, a révélé d'une part, la désorganisation des travées hépatocytaires qui présentent un cytoplasme clair avec la présence des micro- et macro-vésicules lipidiques qui entourent la veine centro-lobulaire, séparées les unes des autres par des capillaires sinusoïdes dilatés et d'autre part, la présence de plusieurs types de cellules immunitaires notamment les monocytes et les lymphocytes.

Les rats, traités à l'atorvastatine, ont connu une amélioration au niveau de la morphologie cellulaire : une architecture normale des cellules, mais des hépatocytes à noyaux condensés ont été observées tandis que les rats, traités avec les *Citrus*, ont acquis un profil histopathologique distinct quasi normal.

Les résultats obtenus dans ce travail, suggèrent que les variétés de *Citrus*, quel que soit la partie étudiée, possèdent une activité hypolipémiante et pourraient jouer un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie du cholestérol. L'augmentation du HDL-C et la diminution du CT du plasma, empêchent le développement de l'athérosclérose

De plus, l'effet hypoglycémiant des jus et des extraits de feuilles, chez les rats hyperglycémiques, a mis en évidence une tolérance élevée au glucose. Cette étude a montré que les flavonoïdes du *Citrus* stimulent la sécrétion de l'insuline qui permet de stocker le glucose dans le foie sous forme de glycogène.

Après 4 semaines d'expérimentation, l'histologie du pancréas des rats, soumis à l'alloxane (150 mg/kg PC), révèle une importante nécrose cytoplasmique et une dégénération des îlots de Langerhans alors que, les acini restent intacts.

Le traitement par les *Citrus*, montre une régénération et une augmentation du système vasculaire des cellules des îlots ainsi qu'une légère nécrose cytoplasmique. Tandis que, le traitement par metformine permet la conservation cellulaire des îlots.

En plus de l'effet hypocholestérolémiant des jus et des extraits méthanoliques des feuilles de *Citrus*, cette étude a pu déterminer leur effet sur les paramètres du stress oxydant associé à la dyslipidémie au niveau hépatique qui constitue le siège de tous les métabolismes.

Les résultats révèlent que les flavonoïdes des feuilles des agrumes et des jus sont des composés chémoprotecteurs cellulaires pourvus d'un pouvoir antioxydant jouant un rôle important contre l'effet nocifs des radicaux libres, cela explique le maintien du taux de la MDA à son niveau cytosolique normal dans le foie des rats traités.

Ces résultats ont mis en évidence l'impact positif des molécules bioactives essentielles dans la prévention de l'hypercholestérolémie et du stress oxydant ; afin de confirmer tous ces effets, il serait intéressant :

- ✓ Identifier les molécules bioactives ayant des effets hypocholestérolémiants, hypoglycémiantes et antioxydants, en vue de leur utilisation comme ingrédients fonctionnels dans les régimes alimentaires destinés aux personnes souffrant d'hypercholestérolémie et de diabète.
- ✓ Analyser les mécanismes d'action moléculaire au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel influençant le métabolisme des lipides ainsi que le statut antioxydant.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

References

- Abad-García, B., Garmón-Lobato, S., Sánchez-Ilárduya, M. B., Berrueta, L. A., Gallo, B., Vicente, F., Alonso-Salces, R. M. (2014).** Polyphenolic contents in *Citrus* fruit juices: authenticity assessment. *European Food Research and Technology*, 238, 803-818.
- Abirami, A., Nagarani, G., Siddhuraju, P. (2014).** *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3(1), 16-25.
- Abirami, A., Nagarani, G., Siddhuraju, P. (2015).** Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food science and human wellness*, 4(1), 35-41.
- Abunasef, S. K., Amin, H. A., & Abdel-Hamid, G. A. (2014).** A histological and immunohistochemical study of beta cells in streptozotocin diabetic rats treated with caffeine. *Folia histochemica et cytobiologica*, 52(1), 42-50.
- Adham, A. N. (2015).** Qualitative and quantitative estimation of hesperidin in peel and juice of *citrus* fruits by RP-HPLC method growing in Kurdistan region/Iraq. In International Conference on Harmonization (ICH) (Vol. 8, No. 9).
- Adnan, M., Umer, A., Ahmad, I., Hayat, K., Shakeel, S. (2014).** *In vitro* evaluation of biological Activities of *Citrus* leaf extracts. *Sains Malaysiana*, 43(2), 185-194.
- Akusu, O. M., Kiin-Kabari, D. B., Ebere, C. O. (2016).** Quality characteristics of orange/pineapple fruit juice blends. *American Journal of Food Science and Technology*, 4(2), 43-47.
- Aldebasi, Y. H., Mohieldein, A. H., Almansour, Y. S., & Almutairi, B. L. (2013).** Dyslipidemia and lipid peroxidation of Saudi type 2 diabetics with proliferative retinopathy. *Saudi Med J*, 34(6), 616-622.

Ali, L. O., AL-Helal, A. G. (2020). Lemon Crude Extract Modulates Ito Cells Activation in High Cholesterol Diet-Induced Liver Steatosis in Male Mice. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(1), 604-608.

Amar, F., Bendouma, F., Betta, F. (2019). Evaluation de l'effet des modalités et la durée de stockage sur quelques activités biologiques d'une plante médicinale (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun-tiaret).

Amarowicz, R., Estrella, I., Hernández, T., Robredo, S., Troszyńska, A., Kosińska, A., Pegg, R. B. (2010). Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food chemistry*, 121(3), 705-711.

Amazian, K., Rossello, J., Castella, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L., Fabry, J. (2010). Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 16 (10), 1070-1078, 2010.

Amitava, D., KIMBERLY, K., DASGUPTA, A., KLEIN, K. (2014). Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements. *Food Research International*, 43(7), 1824-1832.

Ani, P. N., Abel, H. C. (2018). Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of *Citrus maxima* fruit juice and peel extract. *Food Science & Nutrition*, 6(3), 653-658.

Anusuya N, Gomathi R, Manian S, Sivaram V, Menon A (2012) Evaluation of basella rubra l., Rumexnepalensis spreng. And Commelina ben-ghalensis L. For antioxidant activity. *Int. J. Pharm Pharm Sci* 4(3): 714–20.

Arbo, M. D., Larentis, E. R., Linck, V. M., Aboy, A. L., Pimentel, A. L., Henriques, A. T., Limberger, R. P. (2008). Concentrations of p-synephrine in fruits and leaves of *Citrus* species (Rutaceae) and the acute toxicity testing of *Citrus aurantium* extract and p-synephrine. *Food and chemical toxicology*, 46(8), 2770-2775.

Asdaq, S. M. B. (2015). Antioxidant and hypolipidemic potential of aged garlic extract and its constituent, s-allyl cysteine, in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

Asmat, U., Abad, K., Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi pharmaceutical journal*, 24(5), 547-553.

Athmani, N., Dehiba, F., Allaoui, A., Barkia, A., Bougatef, A., Lamri-Senhadji, M. Y., Boualga, A. (2015). Sardina pilchardus and Sardinella aurita protein hydrolysates reduce cholesterolemia and oxidative stress in rat fed high cholesterol diet. *J Exp Integr Med*, 5(1), 47-54.

Atik Bekkara F, Benhammou N, Panovska K (2008) Biological activity of essential oil and the extract of the phenolic compounds of *Inula viscosa* of the area of Tlemcen (Algeria). *Advances in Food Sci* 30(3): 132-139.

Ayaz, M., Subhan, F., Ahmed, J., Khan, A. U., Ullah, F., Ullah, I., Hussain, S. (2015). Sertraline enhances the activity of antimicrobial agents against pathogens of clinical relevance. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 22, 1-8.

Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K. (2015). Therapeutic and nutraceutical potential of bioactive compounds extracted from fruit residues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 319-337.

Bahlil, Y., Krouf, D., Taleb-Dida, N. (2019). *Zygophyllum album* aqueous extract reduces glycemia and ameliorates lipid profile and oxidative damage in hypercholesterolemic-diabetic rats. *Nutrition & Food Science*, 49(1), 141-157.

Banacorsi S. (2007). Bacteriologie médicale, Paris. 135-140p.

Barber, B. K. (2013). Annual research review: The experience of youth with political conflict—challenging notions of resilience and encouraging research refinement. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 54(4), 461-473.

Barbieri, R., Coppo, E., Marchese, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M. (2017). Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological research*, 196, 44-68.

Bartosz, G. (2003). Total antioxidant capacity. *Advances in clinical chemistry*, 37, 219-292.

Baudet, M., Daugareil, C., Ferrieres, J. (2012). Prévention des maladies cardiovasculaires et règles hygiéno-diététiques. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 61, No. 2, pp. 93-98). Elsevier Masson.

Baynes, J. W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, 40(4), 405-412.

Bayoub, K., Baibai, T., Mountassif, D., Retmane, A., Soukri, A. (2010). Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *African Journal of Biotechnology*, 9(27), 4251-4258.

Beauvais, A. M., Stewart, J. G., DeNisco, S., Beauvais, J. E. (2014). Factors related to academic success among nursing students: A descriptive *correlational research study*. *Nurse education today*, 34(6), 918-923.

Becana, M., Klucas, R. V. (1992). Transition metals in legume root nodules: iron-dependent free radical production increases during nodule senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(19), 8958-8962.

Belguendouz, R., Khelifa, H. (2020). Caractérisation chimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des flavonoïdes extraits des feuilles de *Citrus clementina* de la région de la Mitidja (Algérie). *Phytothérapie*, 18(5), 291.

Benaicheta, N., Labbaci, F. Z., Bouchenak, M., Boukortt, F. O. (2016). Effect of sardine proteins on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and lecithin: cholesterol acyltransferase activity, in high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. *British journal of nutrition*, 115(1), 6-13.

Bermejo, A., Pardo, J., Cano, A. (2012). Murcott seedless: influence of gamma irradiation on citrus production and fruit quality. *Spanish journal of agricultural research*, 10(3), 768-777.

Bertrand, C. A., Frizzell, R. A. (2003). The role of regulated CFTR trafficking in epithelial secretion. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 285(1), C1-C18.

Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(6), 2123-2129.

Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., Weber, P. (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Recommandations*, 19, 133-142.

Bonomini, F., Rodella, L. F., Rezzani, R. (2015). Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress. *Aging and disease*, 6(2), 109.

Bora, P., Majumdar, A. S. (2017). Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. *Stem cell research & therapy*, 8(1), 145.

Bostick, B. C., Fendorf, S., Fendorf, M. (2000). Disulfide disproportionation and CdS formation upon cadmium sorption on FeS₂. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(2), 247-255.

Bouazza, A. B., Ardjouman, D., Abada, O. (2015). Establishing the factors affecting the growth of small and medium-sized enterprises in Algeria. *American International journal of Social science*, 4(2), 101-115.

Bougandoura, N., Bendimerad, N. (2012). antifungal activity of aqueuous and methanol extracts OFSatureja calaminthassp.(Nepeta) briq. *Revue des bio ressources*, 2(1), 7-7.

Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.

Braidy, N., Behzad, S., Habtemariam, S., Ahmed, T., Daglia, M., Mohammad Nabavi, S., Fazel Nabavi, S. (2017). Neuroprotective effects of citrus fruit-derived flavonoids, nobiletin and tangeretin in Alzheimer's and Parkinson's disease. *CNS & neurological*

Disorders-Drug targets (formerly current drug Targets-CNS & neurological Disorders), *16(4)*, 387-397.

Bruyere, F., Traxer, O., Saussine, C., Lechevallier, E. (2008). Infection et lithiase urinaire. *Progrès en urologie*, *18(12)*, 1015-1020.

Calop, N., Debaty, I., Ressel, M., Gilbert, C., Benhamou, P. Y., Halimi, S. (2008). PP12 Éducation thérapeutique des diabétiques de type 2: utiliser l'explicitation des représentations propres à chaque patient pour adapter la pédagogie et l'évaluation. *Diabetes & Metabolism*, *34*, H104.

Canan, İ., Gündoğdu, M., Seday, U., Oluk, C. A., Karaşahin, Z., Eroğlu, E. Ç., ÜNLÜ, M. (2016). Determination of antioxidant, total phenolic, total carotenoid, lycopene, ascorbic acid, and sugar contents of Citrus species and mandarin hybrids. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *40(6)*, 894-899.

Caron Jacqueline (2003). Apprivoiser les différences : guide sur la différenciation des apprentissages et la gestion des cycles. Montréal : *Chenelière Éducation*.

Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Atik-Bekkara, F. (2014). Evaluation of antioxidant activity of hydromethanolic extracts of some medicinal species from South Algeria. *Journal of the Chinese Medical Association*, *77(6)*, 302-307.

Chen, G., Wang, H., Zhang, X., Yang, S. T. (2014). Nutraceuticals and functional foods in the management of hyperlipidemia. *Critical reviews in food science and nutrition*, *54(9)*, 1180-1201.

Chen, Y., Hong, Y., Yang, D., He, Z., Lin, X., Wang, G., & Yu, W. (2020). Simultaneous determination of phenolic metabolites in Chinese citrus and grape cultivars. *PeerJ*, *8*, e9083.

Cheong, M. W., Liu, S. Q., Zhou, W., Curran, P., Yu, B. (2012). Chemical composition and sensory profile of pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) juice. *Food Chemistry*, *135(4)*, 2505-2513.

- Cheong, M. W., Liu, S. Q., Zhou, W., Curran, P., Yu, B. (2012).** Chemical composition and sensory profile of pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) juice. *Food Chemistry*, 135(4), 2505-2513.
- Cheurfa, M., Allem, R. (2015).** Study of hypocholesterolemic activity of Algerian *Pistacia lentiscus* leaves extracts *in vivo*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, 142-144.
- Chhikara, N., Kour, R., Jaglan, S., Gupta, P., Gat, Y., Panghal, A. (2018).** *Citrus medica*: nutritional, phytochemical composition and health benefits—a review. *Food & function*, 9(4), 1978-1992.
- Cho, J. H., Collins, J. J., Wong, W. W. (2018).** Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses. *Cell*, 173(6), 1426-1438.
- Chornomaz, P. M., Pagliero, C., Marchese, J., Ochoa, N. A. (2013).** Impact of structural and textural membrane properties on lemon juice clarification. *Food and Bioprocess Processing*, 91(2), 67-73.
- Cindy H, Dalene B, Gunnar OS, Jessy VW (2017)** Characterisation of the flavonoid composition and total antioxidant capacity of juice from different *citrus* varieties from the western cape region. *J. Food Comp and Analy* 62: 115-125.
- De Buyser, M. L., Sutra, L. (2005).** *Staphylococcus aureus*. BIBLIOGRAPHY Bactériologie alimentaire. Compendium d'hygiène des aliments, 292pp. *Economica, Paris*.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E., Brighenti, F., Crozier, A. (2004).** HPLC-MSn analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(10), 2807-2815.
- Demir, I. E., Friess, H., Ceyhan, G. O. (2015).** Neural plasticity in pancreatitis and pancreatic cancer. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 12(11), 649-659.
- Dhuique-Mayer, C., Caris-Veyrat, C., Ollitrault, P., Curk, F., Amiot, M. J. (2005).** Varietal and interspecific influence on micronutrient contents in *citrus* from the Mediterranean area. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 2140-2145.

Djellouli, F. (2019). Portulaca oleracea L. et bienfaits thérapeutiques sur le risque cardiovasculaire. *Nutrition & Santé*, 8(1), 20-26.

Dokumacioglu, E., Iskender, H., Sen, T. M., Ince, I., Dokumacioglu, A., Kanbay, Y., Saral, S. (2018). The effects of hesperidin and quercetin on serum tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 levels in streptozotocin-induced diabetes model. *Pharmacognosy Magazine*, 14(54), 167.

Dorey, S., Baillieul, F., Saindrenan, P., Fritig, B., Kauffmann, S. (1998). "Tobacco class I and II catalases are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance" *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal* 11: 1102-1109.

Downs, C. A., & Faulkner, M. S. (2015). Toxic stress, inflammation and symptomatology of chronic complications in diabetes. *World journal of diabetes*, 6(4), 554.

DRAGSTED, A., LANG, B., 1957. Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. *Annales pharmaceutiques Française*, p.11.

Dromigny. 2008. « Bacillus cereus. » Monographies de microbiologie, Edn Tec & Doc, Lavoisier, Paris

Ehigbai IO, Ehimwenma SO, Faith EO, Kelly O (2016) Phytochemical antimicrobial and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Sci and Nut* 4(1): 103–109

EL-DARDIRY, A. I. (2017). Effect of using orange on the Physico-chemical properties of Ricotta cheese. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 95(1), 299-319.

Elfalleh W, Hannachi H, Tlili N, Yahia Y, Nasri N, Ferchichi A (2012) Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *J. Med Plant Res* 6(30): 47-24.

Ellulu, M. S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., Abed, Y., Ali, F. (2016). Atherosclerotic cardiovascular disease: a review of *initiators and protective factors*. *Inflammopharmacology*, 24, 1-10.

- Erdmann, K., Cheung, B. W., Schröder, H. (2008).** The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of nutritional biochemistry*, 19(10), 643-654.
- Etebu, E., Nwauzoma, A. B. (2014).** A review on sweet orange (*Citrus sinensis* L Osbeck): health, diseases and management. *American Journal of Research Communication*, 2(2), 33-70.
- Fanciullino, A. L., Dhuique-Mayer, C., Froelicher, Y., Talón, M., Ollitrault, P., Morillon, R. (2008).** Changes in carotenoid content and biosynthetic gene expression in juice sacs of four orange varieties (*Citrus sinensis*) differing in flesh fruit color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3628-3638.
- FAO (2017)** Food and agriculture organization of the united nations, Statistical Databases. Available from: <http://www.fao.org/economic/est/est commodities/citrus-fruit/en/>.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- Favier, A. (2006,).** Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396)*. Elsevier Masson.
- Federation, I. D. (2017).** IDF diabetes atlas 8th edition. *International diabetes federation*, 905-911.
- Feki-Sahnoun, W., Hamza, A., Mahfoudi, M., Rebai, A., Hassen, M. B. (2014).** Long-term microphytoplankton variability patterns using multivariate analyses: ecological and management implications. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 11481-11499.
- Feksa, D. L., Coelho, R. P., da Costa Güllich, A. A., Dal Ponte, E. S., Piccoli, J. D. C. E., Manfredini, V. (2018).** Extract of *Citrus maxima* (pummelo) leaves improve hepatoprotective activity in Wistar rats submitted to the induction of non-alcoholic hepatic steatosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 98, 338-346.

- Ferdi, N. E. H., Khalida, A. B. L. A., Chenchouni, H. (2016).** Effect of socioeconomic factors and family history on the incidence of diabetes in an adult diabetic population from Algeria. *Iranian Journal of Public Health*, 45(12), 1636.
- Ferlazzo, N., Visalli, G., Smeriglio, A., Cirmi, S., Lombardo, G. E., Campiglia, P., Navarra, M. (2015).** Flavonoid fraction of orange and bergamot juices protect human lung epithelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Ferreira, S. S., Silva, A. M., Nunes, F. M. (2018).** *Citrus reticulata* Blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, 111, 141-148.
- Feumba, D. R., Ashwini, R. P., Ragu, S. M. (2016).** Chemical composition of some selected fruit peels. *European Journal of Food Science and Technology*, 4(4), 12–21.
- Firdous, S. M., Hazra, S., Gopinath, S. C., El-Desouky, G. E., Aboul-Soud, M. A. (2021).** Antihyperlipidemic potential of diosmin in Swiss Albino mice with high-fat diet induced hyperlipidemia. *Saudi journal of biological sciences*, 28(1), 109-115.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., Chun, O. K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., Chun, O. K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*, 24(7), 1043-1048.
- Friedman, A., Hao, W. (2015).** A mathematical model of atherosclerosis with reverse cholesterol transport and associated risk factors. *Bulletin of mathematical biology*, 77, 758-781.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53(5), 1370-1373.

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

Goldenberg, L., Yaniv, Y., Porat, R., Carmi, N. (2018). Mandarin fruit quality: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1), 18-26.

Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., Madrid, Y. (2019). *Citrus* peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols. *Food chemistry*, 295, 289-299.

Gopal PV (2012) Evaluation of antimicrobial activity of *Citrus aurantium* against some Gram negative bacterial strain. *Pharmacia* 1(3): 107-109.

Górniak, I., Bartoszewski, R., Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry reviews*, 18, 241-272.

Gossiau, A., Zachariah, E., Li, S., Ho, C. T. (2018). Effects of a flavonoid-enriched orange peel extract against type 2 diabetes in the obese ZDF rat model. *Food science and human wellness*, 7(4), 244-251.

Gouaref, I., Bellahsene, Z., Zekri, S., Alamir, B., Kocair, E. A. (2016). Association du profil des minéraux traces au syndrome métabolique et au stress oxydant dans l'hypertension artérielle essentielle avec ou sans diabète de type 2. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 74, No. 2, pp. 233-43).

Goulet, H., Daneluzzi, V., Dupont, C., Heym, B., Page, B., Almeida, K., Rouveix, E. (2009). Évaluation de la qualité des prescriptions d'antibiotiques dans le service d'accueil des urgences d'un CHU en région parisienne. *Médecine et maladies infectieuses*, 39(1), 48-54.

- Grundy, S. M., Benjamin, I. J., Burke, G. L., Chait, A., Eckel, R. H., Howard, B. V., Sowers, J. R. (1999).** Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, 100(10), 1134-1146.
- Gülçin I (2010)** Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight. *Innov. Food Sci and Emerg Tech 11*: 210-218.
- Haddad, M., Aghaei, S., Zargar, M. (2017).** Antimicrobial and antioxidant activity of carotenoid pigment produced by native *Rhodococcus* spp. isolated from soil. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*, 7(1), 809-815.
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Zaouali, Y., Ksouri, R., Attou, A., Benmansour, A. (2013).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food chemistry*, 141(1), 253-258.
- Haineault, S. (2011).** Les vertus thérapeutiques des agrumes, 3ème édition *Quebecor*, pp: 152.
- Hamdan, D. I., Abdulla, R. H., Mohamed, M. E., El-Shazly, A. M. (2013).** Chemical composition and biological activity of essential oils of *Cleopatra* mandarin (*Citrus reshni*) cultivated in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(5), 83-90.
- Hao, W., Friedman, A. (2014).** The LDL-HDL profile determines the risk of atherosclerosis: a mathematical model. *PloS one*, 9(3), e90497.
- Hayes, J. E., Allen, P., Brunton, N., O'grady, M. N., Kerry, J. P. (2011).** Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, *sesamol* and *ellagic acid*. *Food Chemistry*, 126(3), 948-955.
- He, Y., Kang, G., Dong, X., Fu, Y., Yang, Y. (2018).** Soft filter pruning for accelerating deep convolutional neural networks. arXiv preprint arXiv:1808.06866.

Helal, E. G., Almutairi, A., Abdelaziz, M. A., Mohamed, A. A. (2020). Adverse effects of fast green, sodium nitrate and glycine on some physiological parameters. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 80(3), 964-970.

Hermida, N., Balligand, J. L. (2014). Low-density lipoprotein-cholesterol-induced endothelial dysfunction and oxidative stress: the role of statins. *Antioxidants & redox signaling*, 20(8), 1216-1237.

Hindi NKK, Chabuck ZAG (2013). Antimicrobial activity of different aqueous Lemon extracts. *J. App Pharm Sci* 3(6): 074-078.

Houchine, A. (2017). Etude sur l'entomofaune des serres d'agrumes au niveau de la pépinière de Tadmait (région de Tizi-Ouzou) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Huet, R. (1991). Les huiles essentielles d'agrumes (suite). *Fruits*, 46(5), 551-576.

Hunlun, C., De Beer, D., Sigge, G. O., Van Wyk, J. (2017). Characterisation of the flavonoid composition and total antioxidant capacity of juice from different citrus varieties from the Western Cape region. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 115-125.

Hussain, S., Khalid, M. F., Saqib, M., Ahmad, S., Zafar, W., Rao, M. J., Anjum, M. A. (2018). Drought tolerance in citrus rootstocks is associated with better antioxidant defense mechanism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 1-10.

I., Bellahsene, Z., Zekri, S., Alamir, B., Koceir, E. A. (2016). Association du profil des minéraux traces au syndrome métabolique et au stress oxydant dans l'hypertension artérielle essentielle avec ou sans diabète de type 2. *In Annales de biologie clinique (Vol. 74, No. 2, pp. 233-43).*

Igual, M., Garcia-Martinez, E., Camacho, M. M., Martínez-Navarrete, N. (2013). Jam processing and storage effects on β -carotene and flavonoids content in grapefruit. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 736-744.

Iqbal, M., Som, DS., Yasumasa, O., Masayoshi, F., Shigero, O. (2003). "Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in

male mice: possible role in protection against *chemical carcinogenesis and toxicity*." *Pharmacology and toxicology* 92: 33-38

Irkin, R., Doğan, S., Değirmencioglu, N., Diken, M. E., & Gölbaş, M. (2015). Phenolic content, antioxidant activities and stimulatory roles of citrus fruits on some lactic acid bacteria.

Iskender, H., Yenice, G., Dokumacioglu, E., Kaynar, O., Hayirli, A., Kaya, A. (2017). Comparison of the effects of dietary supplementation of flavonoids on laying hen performance, egg quality and egg nutrient profile. *British poultry science*, 58(5), 550-556.

Islam, M. Z., Hossain, M. T., Hossen, F., Mukharjee, S. K., Sultana, N., Paul, S. C. (2018). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Crotalaria pallida* stem extract. *Clinical Phytoscience*, 4, 1-7.

Jabri-Karoui, I., & Marzouk, B. (2014). Bioactive compounds, antioxidant activities and heat stability of corn oil enriched with Tunisian *Citrus aurantium* L. peel extract. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1367-1375.

Jayaprakasha, G. K., Girenavar, B., Patil, B. S. (2008). Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. *Bioresource technology*, 99(10), 4484-4494.

Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., Krishnan, R. (2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 7(Suppl 2), S331-S333.

Jialal, I., Fuller, C. J., Huet, B. A. (1995). The effect of α -tocopherol supplementation on LDL oxidation: a dose-response study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 15(2), 190-198.

Jiang, J., Shan, L., Chen, Z., Xu, H., Wang, J., Liu, Y., Xiong, Y. (2014). Evaluation of antioxidant-associated efficacy of flavonoid extracts from a traditional Chinese medicine

Hua Ju Hong (peels of *Citrus grandis* (L.) Osbeck). *Journal of Ethnopharmacology*, 158, 325-330.

Jiang, J., Yan, L., Shi, Z., Wang, L., Shan, L., Efferth, T. (2019). Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of total flavonoids of Qu Zhi Ke (peel of *Citrus changshan-huyou*) on non-alcoholic fatty liver disease in rats via modulation of NF- κ B and MAPKs. *Phytomedicine*, 64, 153082.

Jokić, S., Velić, D., Bilić, M., Bučić-koJić, A., PIANiNić, M., ToMAS, S. (2010). Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from soybeans.

Kabel, A. M. (2014). Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. *World Journal of Nutrition and Health*, 2(3), 35-38.

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).

Kandouli, C., Cassien, M., Mercier, A., Delehedde, C., Ricquebourg, E., Stocker, P., Pietri, S. (2017). Antidiabetic, antioxidant and anti inflammatory properties of water and n-butanol soluble extracts from Saharian *Anvillea radiata* in high-fat-diet fed mice. *Journal of ethnopharmacology*, 207, 251-267.

Kaper, J., Nataro, J. Mobley, H. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2, 123–140

Karam, I., Ma, N., Yang, Y. J., & Li, J. Y. (2018). Induce hyperlipidemia in rats using high fat diet investigating blood lipid and histopathology. *J Hematol Blood Disord*, 4(1), 104.

Karim, N., Jia, Z., Zheng, X., Cui, S., Chen, W. (2018). A recent review of *citrus* flavanone naringenin on metabolic diseases and its potential sources for high yield-production. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 35-54.

Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., Jaafar, H. Z. (2010). Evaluation of *Crocus sativus* L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. *Molecules*, 15(9), 6244-6256.

Kaur, J. (2014). A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*, 2014.

Kelebek, H. (2010). Sugars, organic acids, phenolic compositions and antioxidant activity of Grapefruit (*Citrus paradisi*) cultivars grown in Turkey. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 269-274.

Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., Khedher, M. (2011, August). Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 69, No. 4, pp. 393-403).

Khan, M. K., Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the major *citrus* polyphenols. *Journal of food composition and analysis*, 33(1), 85-104.

Khan, Y., Khan, R. A., Afroz, S., Siddiq, A. (2010). Evaluation of hypolipidemic effect of *citrus lemon*. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 6(1), 39-43.

Khera, N., Bhatia, A. (2012). Antihyperlipidemic activity of *Woodfordia fruticosa* extract in high cholesterol diet fed mice. *Int. J. Pharm. Phytopharmacol. Res*, 2, 211-215.

Khettal, B., Kadri, N., Tighilet, K., Adjebli, A., Dahmoune, F., Maiza-Benabdeslam, F. (2017). Phenolic compounds from *Citrus* leaves: Antioxidant activity and enzymatic browning inhibition. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(1), 20160030.

Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y., Soro, S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants.

Kouadio, N. J., Guessennd, N. K., Kone, M. W., Moussa, B., Koffi, Y. M., Guede, K. B., Dosso, M. (2015). Evaluation de l'activité des feuilles de *Mallotus oppositifolius* (Geisel.) Müll.-Arg (Euphorbiaceae) sur des bactéries multirésistantes et criblage

phytochimique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1252-1262.

Ktari, N., Belguith-Hadriche, O., Amara, I. B., Hadj, A. B., Turki, M., Makni-Ayedi, F., Nasri, M. (2015). Cholesterol regulatory effects and antioxidant activities of protein hydrolysates from zebra blenny (*Salaria basilisca*) in cholesterol-fed rats. *Food & function*, 6(7), 2273-2282.

KunduSen, S., Gupta, M., Mazumder, U. K., Haldar, P. K., Saha, P., Bala, A. (2011). Antitumor activity of *Citrus maxima* (Burm.) Merr. leaves in Ehrlich's Ascites Carcinoma cell-treated mice. *International Scholarly Research Notices*, 2011.

Lagha-Benamrouche, S., Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50, 723-730.

Lassoued, I., Trigui, M., Ghilissi, Z., Nasri, R., Jamoussi, K., Kessis, M., Barkia, A. (2014). Evaluation of hypocholesterolemic effect and antioxidant activity of Boops boops proteins in cholesterol-fed rats. *Food & function*, 5(6), 1224-1231.

Le Borgne, D., & Rocca-Volmerange, B. (2002). Photometric redshifts from evolutionary synthesis with PÉGASE: The code Z-PEG and the age constraint. *Astronomy & Astrophysics*, 386(2), 446-455.

Lefèvre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F., Bonnefont-Rousselot, D., Cristol, J. P., Thérond, P., Torreilles, J. (1998). Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 56, No. 3, pp. 305-19).

Li, C., Schluesener, H. (2017). Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(3), 613-631.

Liang, Y., Cao, W., Chen, W. J., Xiao, X. H., Zheng, J. B. (2009). Simultaneous determination of four phenolic components in citrus honey by high performance liquid chromatography using electrochemical detection. *Food Chemistry*, 114(4), 1537-1541.

Libby, P. (2001). Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 104(3), 365-372.

Liberal, I., & Engheta, N. (2017). Near-zero refractive index photonics. *Nature Photonics*, 11(3), 149-158.

Lim, T. K. (2012). Edible medicinal and non-medicinal plants (Vol. 1, pp. 285-292). *Dordrecht, The Netherlands:: Springer*.

Lin, L. Y., Chuang, C. H., Chen, H. C., & Yang, K. M. (2019). Lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) essential oils: Volatile compounds, antioxidant capacity, and hypolipidemic effect. *Foods*, 8(9), 398.

Liu, Y., Dong, M., Yang, Z., Pan, S. (2016). Anti-diabetic effect of citrus pectin in diabetic rats and potential mechanism via PI3K/Akt signaling pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 484-488.

Liu, Y., Heying, E., Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive reviews in Food Science and Food safety*, 11(6), 530-545.

Liyana-Pathirana CM, Shahid F (2006) Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *J. Science of Food and Agricul* 86(3): 477–485.

Lobel, B., & Soussy, C. (Eds.). (2007). Les infections urinaires. *Springer science & Business media*.

Loizzo, M. R., Sicari, V., Tundis, R., Leporini, M., Falco, T., Calabrò, V. (2019). The influence of ultrafiltration of *Citrus limon* L. burm. cv femminello comune juice on its chemical composition and antioxidant and hypoglycemic properties. *Antioxidants*, 8(1), 23.

Lorente, J., Vegara, S., Martí, N., Ibarz, A., Coll, L., Hernández, J., Saura, D. (2014). Chemical guide parameters for Spanish lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.) juices. *Food chemistry*, 162, 186-191.

Luscinskas, F. W., Cybulsky, M. I., Kiely, J. M., Peckins, C. S., Davis, V. M., Gimbrone Jr, M. A. (1991). Cytokine-activated human endothelial monolayers support enhanced neutrophil transmigration via a mechanism involving both endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 146(5), 1617-1625.

M'Hiri, N. (2015). Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone. Tunis: Université de Lorraine.

Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 102-107.

Mabberley, D. J. (2008). Mabberley's Plant-book: a portable dictionary of plants, their classifications and uses (No. Ed. 3). *Cambridge university press*

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). The phenolic composition of plants. An example of secondary metabolites of economic importance. The phenolic composition of plants. An example of secondary metabolites of economic importance.

Madhuri S, Ashwini UH, Srilakhmi NS, Prashith KTR (2014) Antimicrobial activity of *Citrus aurantium* peel extract. *J Pharm. Sci Innov* 3: 366-368/

Mahmoud, A. M., Bautista, R. J. H., Sandhu, M. A., Hussein, O. E. (2019). Beneficial effects of *citrus* flavonoids on cardiovascular and metabolic health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.

- Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9), 35.
- Mallick, N., Khan, R. A. (2016).** Antihyperlipidemic effects of *Citrus sinensis*, *Citrus paradisi*, and their combinations. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 8(2), 112-118.
- Manner, H.I., Buker, R.S., Smith, V.E., Ward, D. and Elevitch, C.R. (2006)** Citrus (Citrus) and Fortunella (Kumquat). Species Profile for Pacific Island Agroforestry, 2, 1-35.
- Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., Segura-Galindo, A., del Cañizo-Gómez, F. J. (2014).** Type 2 diabetes and cardiovascular disease: have all risk factors the same strength.. *World journal of diabetes*, 5(4), 444.
- Martoja, R., Martoja-Pierson, M. (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale.
- Matsuda, M., Shimomura, I. (2013).** Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obesity research & clinical practice*, 7(5), e330-e341.
- Menichini, F., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Conforti, F., De Luca, D., Statti, G. A., Tundis, R. (2011).** Phytochemical profile, antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic potential of hydroalcoholic extracts from *Citrus medica* L. cv Diamante flowers, leaves and fruits at two maturity stages. *Food and Chemical Toxicology*, 49(7), 1549-1555.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018).** Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

Monroe, A. K., Brown, T. T., Cox, C., Reynolds, S. M., Wiley, D. J., Palella, F. J., Plankey, M. W. (2015). Physical activity and its association with insulin resistance in multicenter AIDS cohort study men. *AIDS research and human retroviruses*, 31(12), 1250-1256.

Montonen, J., Boeing, H., Fritsche, A., Schleicher, E., Joost, H. G., Schulze, M. B., Pischon, T. (2013). Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. *European journal of nutrition*, 52, 337-345.

Moussa, Z., Judeh, Z. M., & Ahmed, S. A. (2019). Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants. *Free radical medicine and biology*, 1, 11-22.

Muthiah P, Umamaheswari M, Asokkumar K (2012) *In vitro* antioxidant activities of leaves, fruits and peel extracts of *Citrus*. *Int J Phytopharm* (2): 13–20.

Nabel, E. G., Braunwald, E. (2012). A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 366(1), 54-63.

Naczk, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.

Nasri, M., Bedjou, F., Porras, D., Martínez-Flórez, S. (2018). Activités antioxydantes, anti-inflammatoires et analgésiques des extraits des feuilles de *Citrus reticulata* Blanco: étude *in vivo* et *in vitro*. *Phytothérapie*, 1-13.

Nataro, J. P., Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic escherichia coli. *Clinical microbiology reviews*, 11(1), 142-201.

Navab, M., Berliner, J. A., Subbanagounder, G., Hama, S., Lusa, A. J., Castellani, L. W., Fogelman, A. M. (2001). HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 21(4), 481-488.

- Nofer, J. R., Kehrel, B., Fobker, M., Levkau, B., Assmann, G., & von Eckardstein, A. (2002). HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, 161(1), 1-16.
- Oboh, G., Bello, F. O., & Ademosun, A. O. (2014). Hypocholesterolemic properties of grapefruit (*Citrus paradisi*) and shaddock (*Citrus maxima*) juices and inhibition of angiotensin-1-converting enzyme activity. *Journal of food and drug analysis*, 22(4), 477-484.
- Oguntibeju, O. O., Esterhuyse, A. J., ruter, E. J. (2009). Red palm oil: nutritional, physiological and therapeutic roles in improving human wellbeing and quality of life. *British journal of biomedical science*, 66(4), 216-222.
- Ogurtsova, K., da Rocha Fernandes, J. D., Huang, Y., Linnenkamp, U., Guariguata, L., Cho, N. H., Makaroff, L. E. (2017). IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes research and clinical practice*, 128, 40-50.
- Ordoñez AAL, Gomez JD, Vattuone MA, Isla MI (2006) Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *J. Food Chem* 97: 452-458
- Ortiz, J.M. (2002). *Citrus*. Botany: taxonomy, morphology and physiology of fruits, leaves and flowers. *Taylor & Francis*, 2: 16-35.
- Oskoueian, E., Abdullah, N., Saad, W. Z., Omar, A. R., Ahmad, S., Kuan, W. B., Ho, Y. W. (2011). Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *J. Med. Plants Res*, 5(1), 49-57.
- Ouweneel, A. B., Van Eck, M. (2016). Lipoproteins as modulators of atherothrombosis: from endothelial function to primary and secondary coagulation. *Vascular pharmacology*, 82, 1-10.

Oyaizu, M. (1986) Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

Paglia DE. Valentine W.N., (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Lab Clin Med* 70: 158-169.

Pandya, N. M., Dhalla, N. S., Santani, D. D. (2006). Angiogenesis—a new target for future therapy. *Vascular pharmacology*, 44(5), 265-274.

Parraga-Martinez, I., Lopez-Torres-Hidalgo, J. D., Del Campo-Del Campo, J. M., Galdón-Blesa, M. P., Precioso-Yanez, J. C., Rabanales-Sotos, J., Lloret-Callejo, A. (2015). Long-term effects of plant stanols on the lipid profile of patients with hypercholesterolemia. A randomized clinical trial. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 68(8), 665-671.

Perveen K, Bokhari NA et Dina Soliman AW. (2012). Antibacterial activity of Phoenix dactylifera L. leaf and pit extracts against selected Gram negative and Gram positive pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2): 296–300

Peterson, J. J., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Dwyer, J. T., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B., Holden, J. M. (2006). Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of food composition and analysis*, 19, S74-S80.

Potter, R. J., Coneva, E. D. (2018). Assessment of newly released and well-established rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) cultivars in North Alabama. *Agricultural Sciences*, 9(1), 78-98.

Prasad, R. B., Groop, L. (2015). Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. *Genes*, 6(1), 87-123.

- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005).** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Qinna, N. A., Badwan, A. A. (2015).** Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug design, development and therapy*, 2515-2525.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K. (2014).** Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*.
- Ram, K., Sarin, M. M., Sudheer, A. K., engarajan, R. (2012).** Carbonaceous and secondary inorganic aerosols during wintertime fog and haze over urban sites in the Indo-Gangetic Plain. *Aerosol and Air Quality Research*, 12(3), 359-370.
- Ramful D, Tarnus E, Aruoma OI, Bourdon E, Bahorun T (2011)** Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian *citrus* fruitpulp. *Food Research International* 44: 2088–2099.
- Razi, M. F., Khan, I. A., & Jaskani, M. J. (2011).** *Citrus* plant nutritional profile in relation to Huanglongbing prevalence in Pakistan. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 48(4), 299-304.
- Reis, F. S., Barros, L., Martins, A., Ferreira, I. C. (2012).** Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 191-197.
- Rekha C, Poornima G, Manasa M, Abhipsa V, Devi P J, Kumar V H T, Prashith kekuda T R (2012).** Ascorbic acid, total phenol content and antioxidant activity of fresh juices of four ripe and unripe *citrus* fruits. *Chem. Sci Transactions* 1(2): 303-310.
- Rekha, S. S., Pradeepkiran, J. A., Bhaskar, M. (2019).** Bioflavonoid hesperidin possesses the anti-hyperglycemic and hypolipidemic property in STZ induced diabetic myocardial

infarction (DMI) in male Wister rats. *Journal of nutrition & intermediary metabolism*, 15, 58-64.

Rekhy, R., McConchie, R. (2014). Promoting consumption of fruit and vegetables for better health. Have campaigns delivered on the goals. *Appetite*, 79, 113-123.

Riaz, A., Khan, R. A., Algahtani, H. A. (2014). Memory boosting effect of Citrus limon, Pomegranate and their combinations. *Pak. J. Pharm. Sci*, 27(6), 1837-1840.

Ríos-Arrabal, S., Artacho-Cordón, F., León, J., Román-Marinetto, E., del Mar Salinas-Asensio, M., Calvente, I., Núñez, M. I. (2013). Involvement of free radicals in breast cancer. *Springerplus*, 2, 1-12.

Rufián-Henares, J. A., Delgado-Andrade, C. (2009). Effect of digestive process on Maillard reaction indexes and antioxidant properties of breakfast cereals. *Food Research International*, 42(3), 394-400.

Sadoun, F., Si Tahar, M. (2023). Etude comparative de l'activité antioxydante des agrumes

Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.

Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., Maligan, J. M. (2014). Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis chuii Yield Analysis and Phytochemical Screening Ethanol Extract of Marine Microalgae Tetraselmis chuii. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 121-126.

Schlienger, J. L. (2013). Complications du diabète de type 2. *La presse médicale*, 42(5), 839-848.

Scordino, M., Sabatino, L. (2014). Characterization of polyphenolic profile of citrus fruit by HPLC/PDA/ESI/MS-MS. In *Polyphenols in Plants* (pp. 187-199). Academic Press.

- Sicari, V., Pellicanò, T. M., Giuffrè, A. M., Zappia, C., Capocasale, M. (2016).** Bioactive compounds and antioxidant activity of *citrus* juices produced from varieties cultivated in Calabria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10, 773-780.
- Simonne, A. H., Ritenour, M. A., Terry, L. A. (2011).** *Citrus* (Orange, Lemon, Mandarin, Grapefruit, Lime and Other citrus fruits). *Health-promoting properties of fruits and vegetables*.
- Singh, B., Singh, J., Singh, J. P., Kaur, A., Singh, N. (2020).** Phenolic compounds in potato (*Solanum tuberosum* L.) peel and their health-promoting activities. *International journal of food science & technology*, 55(6), 2273-2281.
- Singh, P., Shukla, R., Prakash, B., Kumar, A., Singh, S., Mishra, P. K., Dubey, N. K. (2010).** Chemical profile, antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1734-1740.
- Singh, S., Bittner, V. (2015).** Familial hypercholesterolemia epidemiology, diagnosis, and screening. *Current atherosclerosis reports*, 17, 1-8.
- Skalicky, S., Goldberg, I. (2008).** Depression and quality of life in patients with glaucoma: a cross-sectional analysis using the Geriatric Depression Scale-15, assessment of function related to vision, and the Glaucoma Quality of Life-15. *Journal of glaucoma*, 17(7), 546-551.
- Smushkin, G., Vella, A. (2010).** What is type 2 diabetes?. *Medicine*, 38(11), 597-601.
- Sobel, J. D. (2000).** Kaye D (Editor). Urinary Tract Infections. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. *Churchill Livingstone, Newyork*, 773-805.
- Sohal, R. S., Mockett, R. J., Orr, W. C. (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(5), 575-586.

Šrajer, V., Teng, T. Y., Ursby, T., Pradervand, C., Ren, Z., Adachi, S. I., Moffat, K. (1996). Photolysis of the carbon monoxide complex of myoglobin: nanosecond time-resolved crystallography. *Science*, 274(5293), 1726-1729.

Srinivasan, S., Pari, L. (2013). Antihyperlipidemic effect of diosmin: A citrus flavonoid on lipid metabolism in experimental diabetic rats. *Journal of functional foods*, 5(1), 484-492.

Suntar, I., Khan, H., Patel, S., Celano, R., Rastrelli, L. (2018). An overview on *Citrus aurantium L.*: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

Swallah, M. S., Sun, H., Affoh, R., Fu, H., Yu, H. (2020). Antioxidant potential overviews of secondary metabolites (polyphenols) in fruits. *International journal of food science*, 2020.

Swingle WT, Reece PC (1967) The botany of Citrus and its wild relatives. In: Reuther W, Webber HJ, Batchelor LD (eds) *The citrus industry*, vol 1. *University of California, Berkeley*, pp 190–430

Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes*, 6(3), 456.

Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food chemistry*, 104(4), 1372-1378.

Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., Abderrahmani, A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(502), 26-32.

Tepe B, Sokmen M, Akpulat H.A, Sokmen A (2006) Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *J. Food Chem* 95 : 200-204

Thomas, C. C., & Philipson, L. H. (2015). Update on diabetes classification. *Medical Clinics*, 99(1), 1-16.

- Tomita, T. (2016).** Apoptosis in pancreatic β -islet cells in Type 2 diabetes. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 16(3), 162.
- Tosenberger, A. (2014).** La modélisation des écoulements sanguins et les applications à la coagulation du sang et l'athérosclérose (Doctoral dissertation, Lyon 1).. *J. Sci. Food and Agricul* 91(1): 142–151
- Tounsi MS, Wannes WA, Ouerghemmi I, Jegham S, Ben Njima Y, Hamdaoui G, Zemni H, Marzouk B (2011)** Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian Citrus varieties
- Tsai, H. L., Chang, S. K., Chang, S. J. (2007).** Antioxidant content and free radical scavenging ability of fresh red pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] juice and freeze-dried products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(8), 2867-2872.
- Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Vaillancourt, C., Bédard, A., Bélanger-Gravel, A., Provencher, V., Bégin, C., Desroches, S., Lemieux, S. (2019).** Promoting healthy eating in adults: An evaluation of pleasure-oriented versus health-oriented messages. *Current developments in nutrition*, 3(5), nzz012.
- Vijayalakshmi, P. (2016).** Pharmacognostical, Phytochemical and Anti Alzhiemer Activity for the Peels of *Citrus Maxima* (BURM.) Merr.(RUTACEAE) *Using Various Approaches* (Doctoral dissertation, College of Pharmacy, Madras Medical College, Chennai).
- Vorkaufe S. (2011).** Stéphanie. Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique. Résultats de deux tours d'un audit clinique réalisé par 66 médecins généralistes lorrains. 2011. *Thèse de doctorat. UHP- Université Henri Poincaré.*

- Waghaye, S. Y., Kshirsagar, R. B., Sawate, A. R., Shareef, M. (2019).** Studies on development and organoleptic evaluation of lime and Aloe vera *Spread. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 1240-1242.
- Wang, J., Wang, H. (2017).** Oxidative stress in pancreatic beta cell regeneration. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
- Wang, Y., Qian, J., Cao, J., Wang, D., Liu, C., Yang, R., Sun, C. (2017).** Antioxidant capacity, anticancer ability and flavonoids composition of 35 citrus (*Citrus reticulata* Blanco) varieties. *Molecules*, 22(7), 1114.
- Wangcharoen, W., Morasuk, W. (2007).** Antioxidant capacity and phenolic content of holy basil. *Songklanakarin J Sci Technol*, 29(5), 1407-1415.
- Wavre-Oberhänsli, A., Nicod, L. P. (2010).** *Pseudomonas aeruginosa* et maladie broncho-pulmonaire chronique obstructive: Pneumologie. *Revue médicale suisse*, 6(272), 2240-2243.
- William Horwitz, George W. Latimer AOAC (2012)** Official Method of Analysis: *Association of Analytical Chemists. 19th Edition, Washington DC*, 121-130.
- Xi, W., Lu, J., Qun, J., Jiao, B. (2017).** Characterization of phenolic profile and antioxidant capacity of different fruit part from lemon (*Citrus limon* Burm.) cultivars. *Journal of food science and technology*, 54, 1108-1118.
- Xi, W., Zhang, G., Jiang, D., Zhou, Z. (2015).** Phenolic compositions and antioxidant activities of grapefruit (*Citrus paradisi* Macfadyen) varieties cultivated in China. *International journal of food sciences and nutrition*, 66(8), 858-866.
- Xu G, Liu D, Chen J, Ye X, Ma Y, Shi J (2008)** Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *J. Food Chem* 106(2): 545–551;
- Yahia-Berrouiguet, A., Meguenni, K., Benyoucef, M., Faivre, B., Brouri, M. (2009).** P61 Dépistage des facteurs de risque de maladies cardio-vasculaire à Tlemcen. *Diabetes & Metabolism*, 35, A42-A43.

Yang, J., Zhang, Y. (2015). Protein structure and function prediction using I-TASSER. *Current protocols in bioinformatics*, 52(1), 5-8.

Yenrina, R. (2015). Metode analisis bahan pangan dan komponen bioaktif. Persepsi Masyarakat Terhadap Perawatan Ortodontik Yang Dilakukan Oleh Pihak Non Profesional, 1(9).

Yoo, K. M., Moon, B. (2016). Comparative carotenoid compositions during maturation and their antioxidative capacities of three *citrus* varieties. *Food Chemistry*, 196, 544-549.

Yu, Y., Xu, Y., Wu, J., Xiao, G., Fu, M., Zhang, Y. (2014). Effect of ultra-high pressure homogenisation processing on phenolic compounds, antioxidant capacity and anti-glucosidase of mulberry juice. *Food Chemistry*, 153, 114-120.

Yusuf, U. A., Sijumbila, G., Mesole, B. S., Mulemena, J. A., Kamvuma, K., Eweoya, O. O., Adenowo, T. K. (2019). Histological study on the effects of aqueous extracts of citron leaf on pancreas of hyperglycemic wistar rats. *Biol Sci Pharma Res*, 7(5), 82-90.

Zahra, N. F., & Saoussen, S. (2012). Cholestérol et Triglycérides) et d'un Paramètre Hématologique (Plaquettes sanguines) au cours du Stress Oxydatif (chez les Malades Diabétiques).

Zaidun, N. H., Thent, Z. C., Abd Latiff, A. (2018). Combating oxidative stress disorders with citrus flavonoid: Naringenin. *Life sciences*, 208, 111-122.

Zarai, Z., Kadri, A., Ben Chobba, I., Ben Mansour, R., Bekir, A., Mejdoub, H., Gharsallah, N. (2011). The in-vitro evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of Marrubium vulgare L'essential oil grown in Tunisia. *Lipids in health and disease*, 10, 1-8.

Zargar, M., Azizah, A. H., Roheeyati, A. M., Fatimah, A. B., Jahanshiri, F., Pak-Dek, M. S. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of different extracts from Vitex negundo leaf. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(12), 2525-2532.

Zhang Y, Sun Y, Xi W, Shen Y, Qiao L, Zhong L, Zhou Z (2014) Phenolic compositions and antioxidant capacities of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruits. *Food Chemistry*, 145, 674–680.

Zhang, H., Xie, Y., Liu, C., Chen, S., Hu, S., Xie, Z., Xu, J. (2017). Comprehensive comparative analysis of volatile compounds in *citrus* fruits of different species. *Food chemistry*, 230, 316-326.

Zhang, M., Duan, C., Zang, Y., Huang, Z., Liu, G. (2011). The flavonoid composition of flavedo and juice from the pummelo cultivar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) and the grapefruit cultivar (*Citrus paradisi*) from China. *Food Chemistry*, 129(4), 1530-1536. *CAB International, Oxfordshire, UK*, 90-117.

Zhang, T., Lan, Y., Zheng, Y., Liu, F., Zhao, D., Mayo, K. H., Tai, G. (2016). Identification of the bioactive components from pH-modified *citrus* pectin and their inhibitory effects on galectin-3 function. *Food Hydrocolloids*, 58, 113-119.

Zhou, X. M., Huang, M. M., He, C. C., Li, J. X. (2009). Inhibitory effects of citrus extracts on the experimental pulmonary fibrosis. *Journal of ethnopharmacology*, 126(1), 143-148.

Zhou, Y., He, W., Zheng, W., Tan, Q., Xie, Z., Zheng, C., Hu, C. (2018). Fruit sugar and organic acid were significantly related to fruit Mg of six citrus cultivars. *Food chemistry*, 259, 278-285.

Zhou, Z. Q. (2012). *Citrus* fruits nutrition. *Science Press, Beijing, China*, 19, 85-96.

Zidan, A. S., Hosny, K. M., Ahmed, O. A., Fahmy, U. A. (2016). Assessment of simvastatin niosomes for pediatric transdermal drug delivery. *Drug delivery*, 23(5), 1536-1549.

Zou Z, Xi W, Hu Y, Nie C, Zhou Z (2016) Antioxidant activity of *Citrus* fruits. *J. Food Chem* (196): 885–896.

Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. (2004). Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5032-5039.

Zvaigzne, G., Kārkliņa, D., Moersel, J. T., Kuehn, S., Krasnova, I., Segliņa, D. (2017). Ultra-high temperature effect on bioactive compounds and sensory attributes of orange juice compared with traditional processing. In Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. *Natural, Exact, and Applied Sciences*. (Vol. 71, No. 6, pp. 486-491).

ANNEXES

ANNEXES

Annexe I : Tests in vitro

1. Etude statistique des Analyses physico-chimique et nutritionnelles du jus d'agrumes

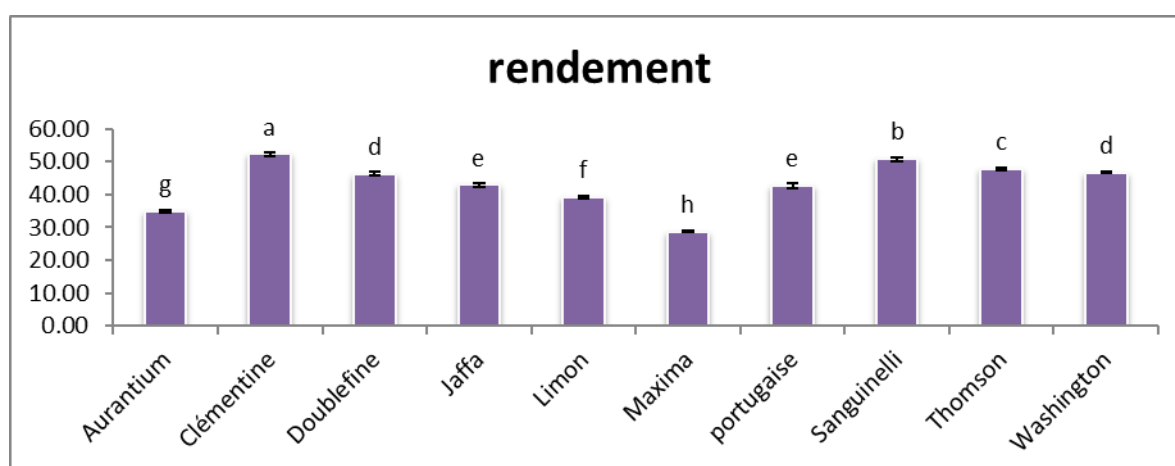


Figure 33. Le taux de Rendement du jus fraîchement extrait des agrumes

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative ($*P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

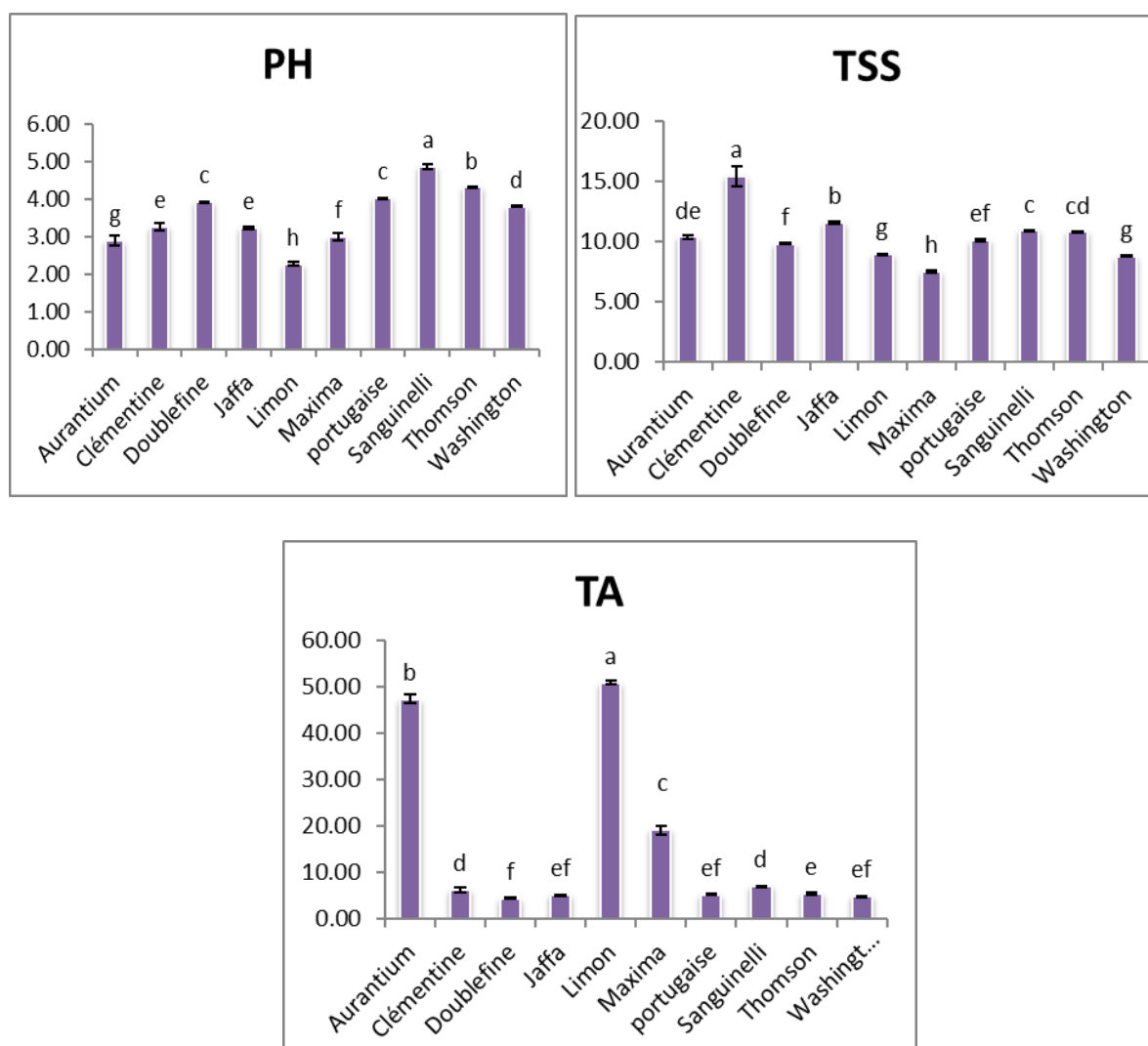


Figure 34. Le pH, acidité titrable et Total des solides solubles du jus fraîchement extrait des agrumes

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative ($*P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

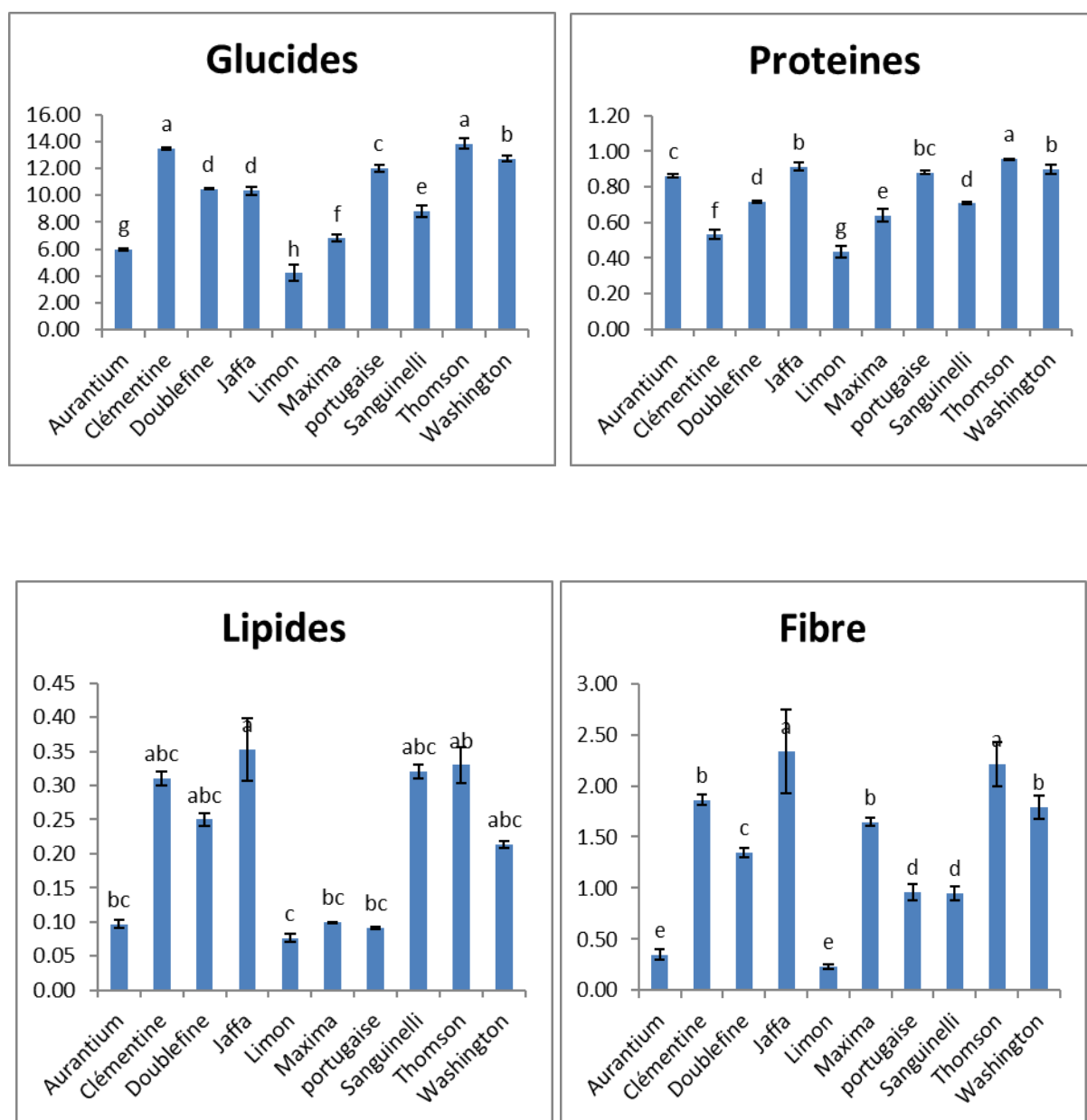


Figure 35. Composition chimique globale des jus de différentes variétés d'agrumes

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative ($*P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$,

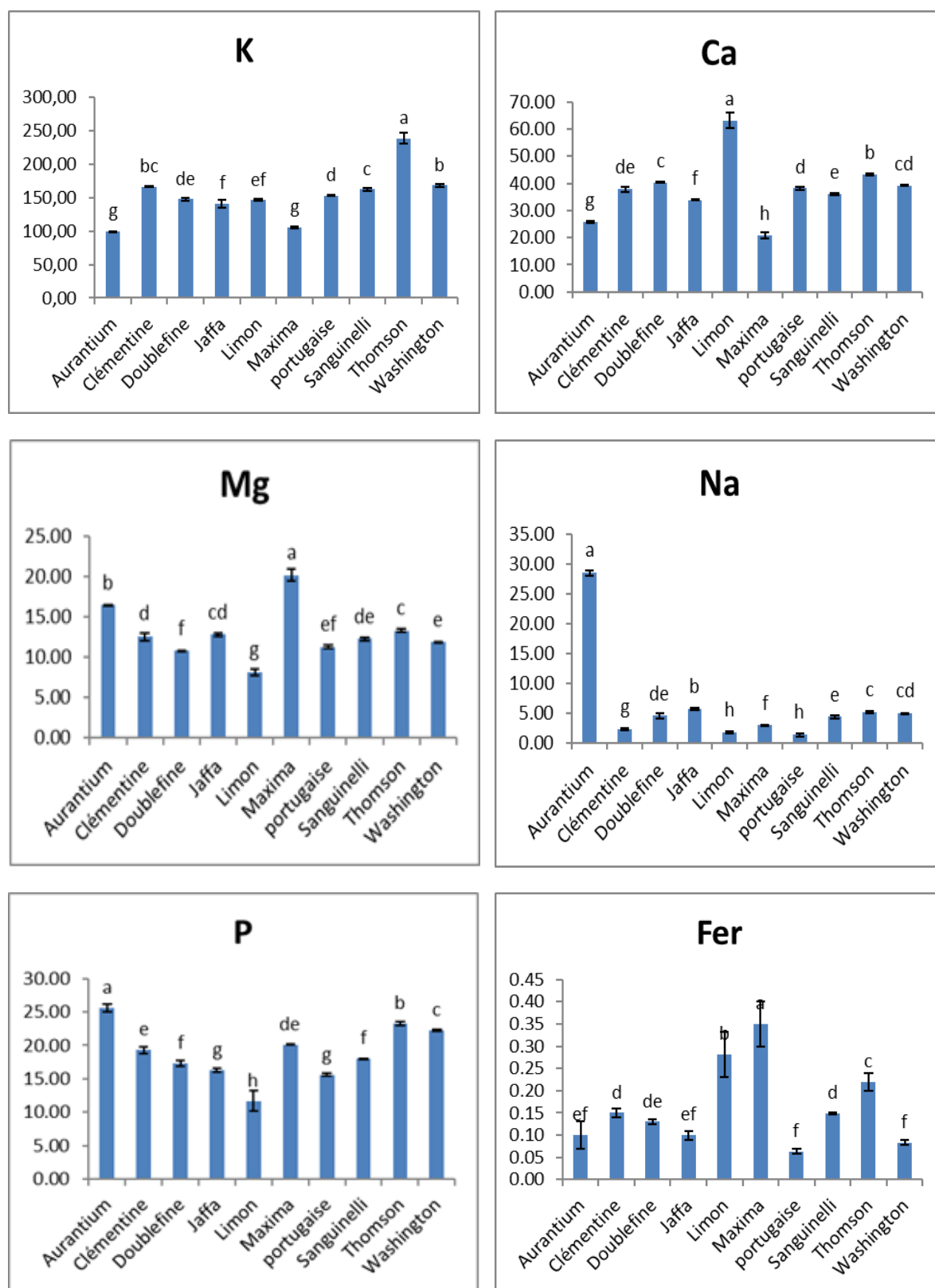


Figure 36. Composition en minéraux des jus d'agrumes : K, Ca, Na, P, Mg et Fer

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative ($*P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

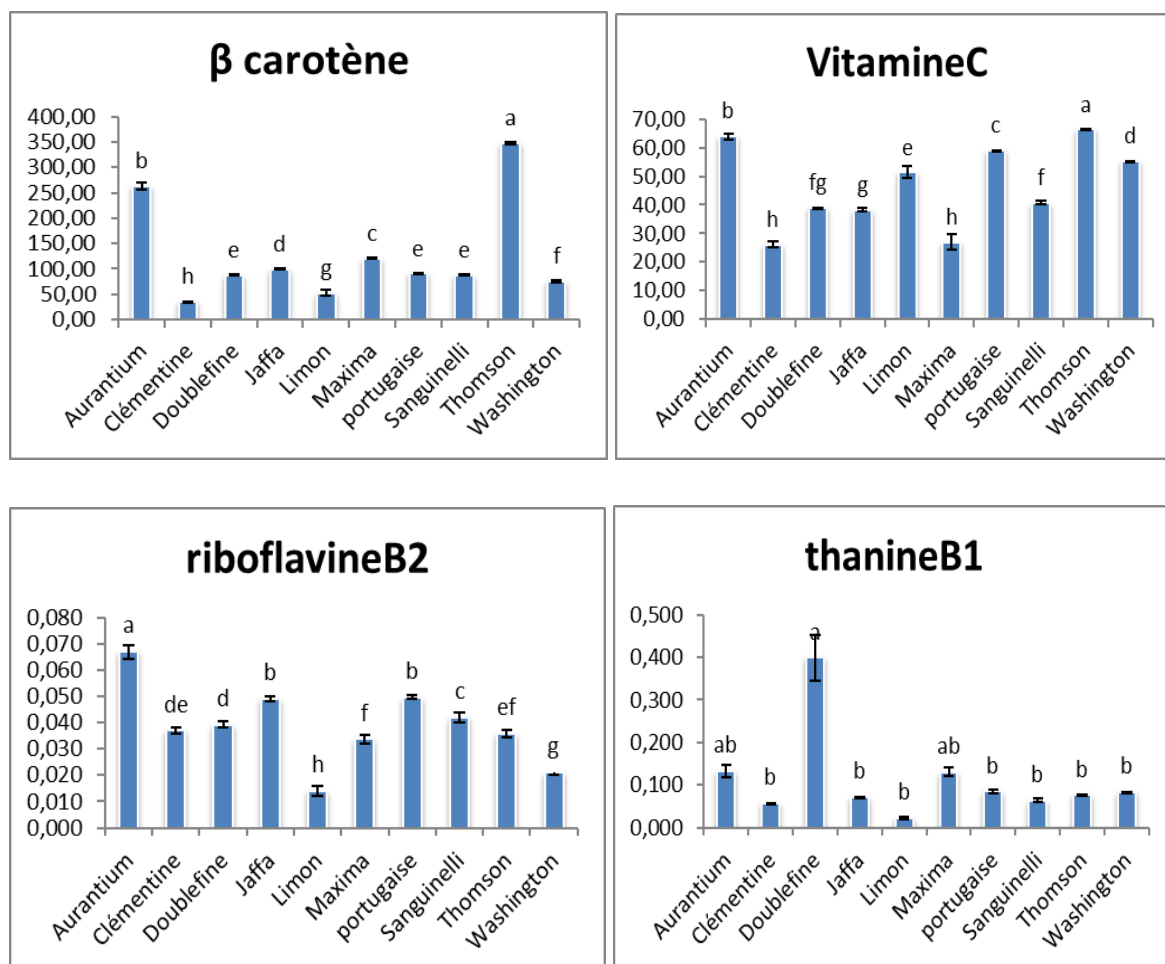


Figure 37. Composition en vitamines des jus d'agrumes : β -carotène, vitamine C, B2, B1

Les résultats sont exprimés sous la forme d'une moyenne de trois expériences $\pm$ SD. Les valeurs portant la même lettre sur une même colonne n'ont montré aucune différence significative ($*P < 0,05$). Les résultats sont triés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

Annexe I : Les tests *in vitro*

2/ Les courbes d'étalonnages

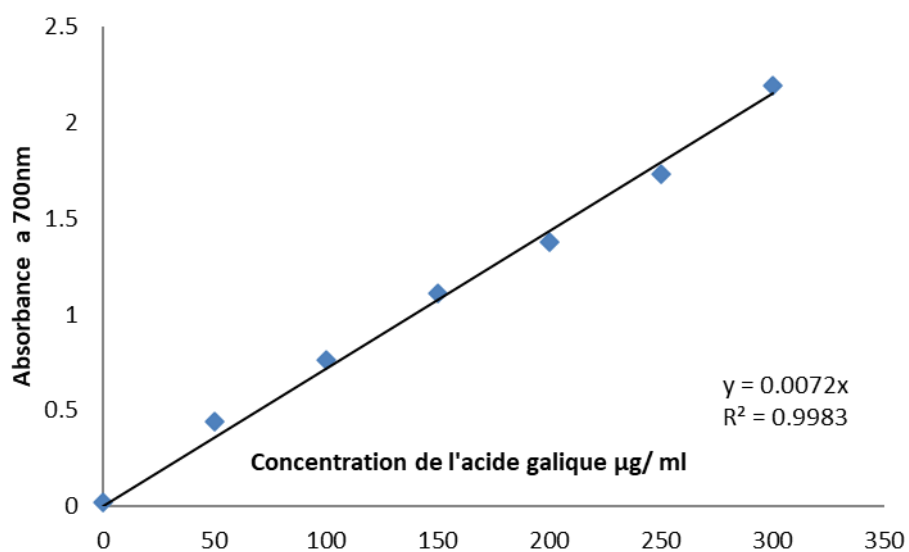
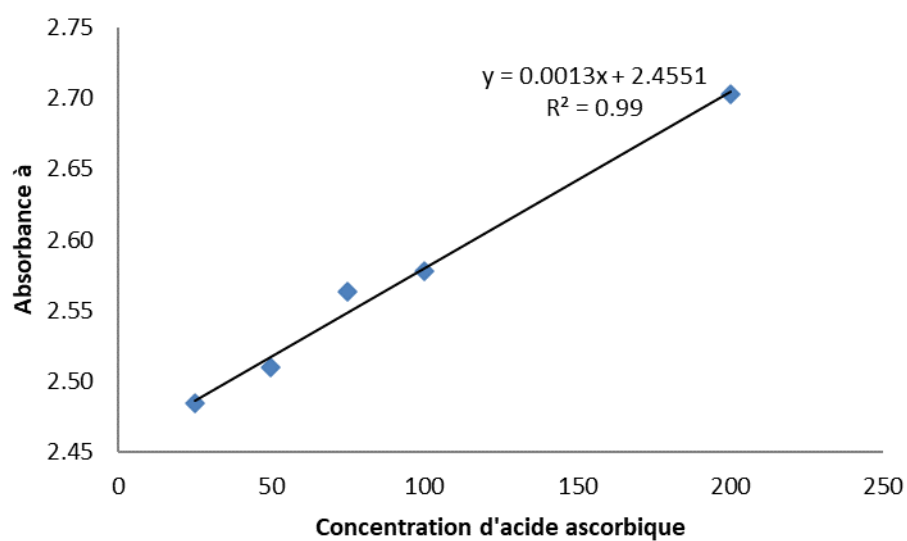
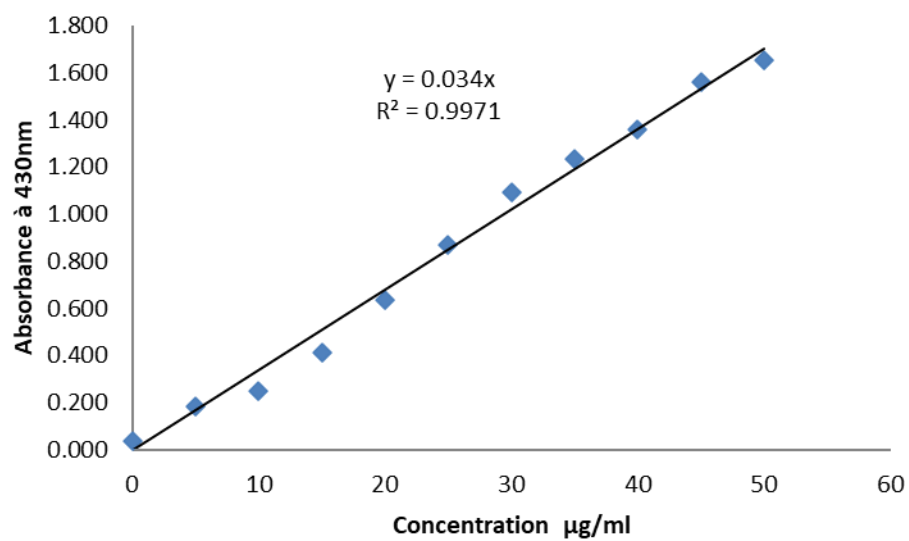
**Figure 38.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique à 765 nm.

Figure 39. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique**Figure 40.** Courbe d'étalonnage de la quercétine à 420 nm.

3/ Chromatogrammes de l'identification des composés phénoliques des extraits méthanoliques et des jus de *Citrus*

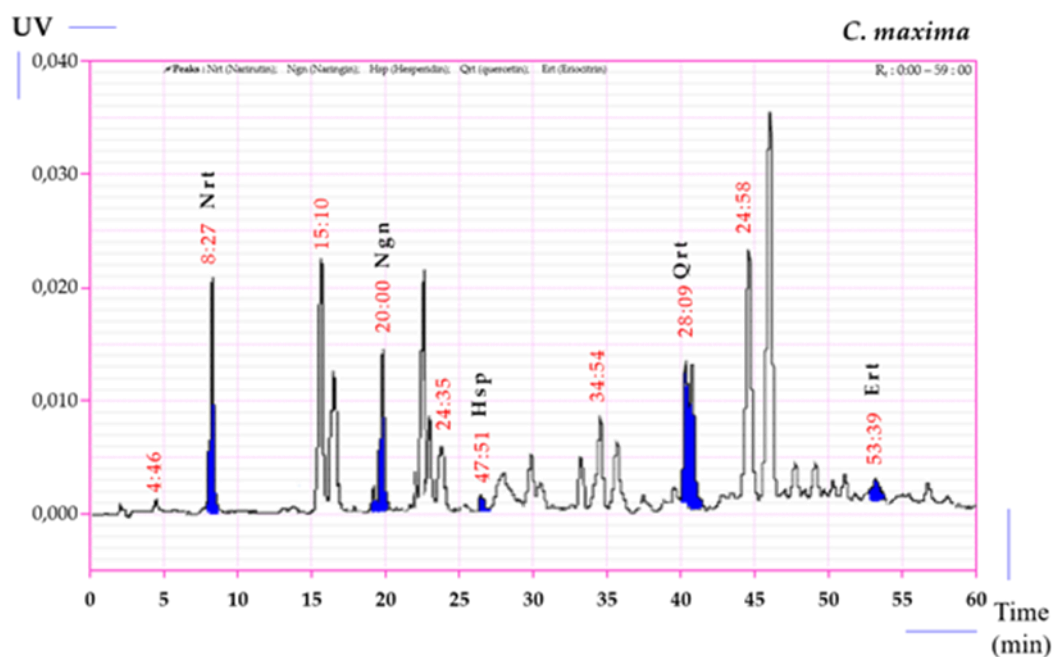


Figure 41 : Profil chromatographique de jus des *Citrus maxima*

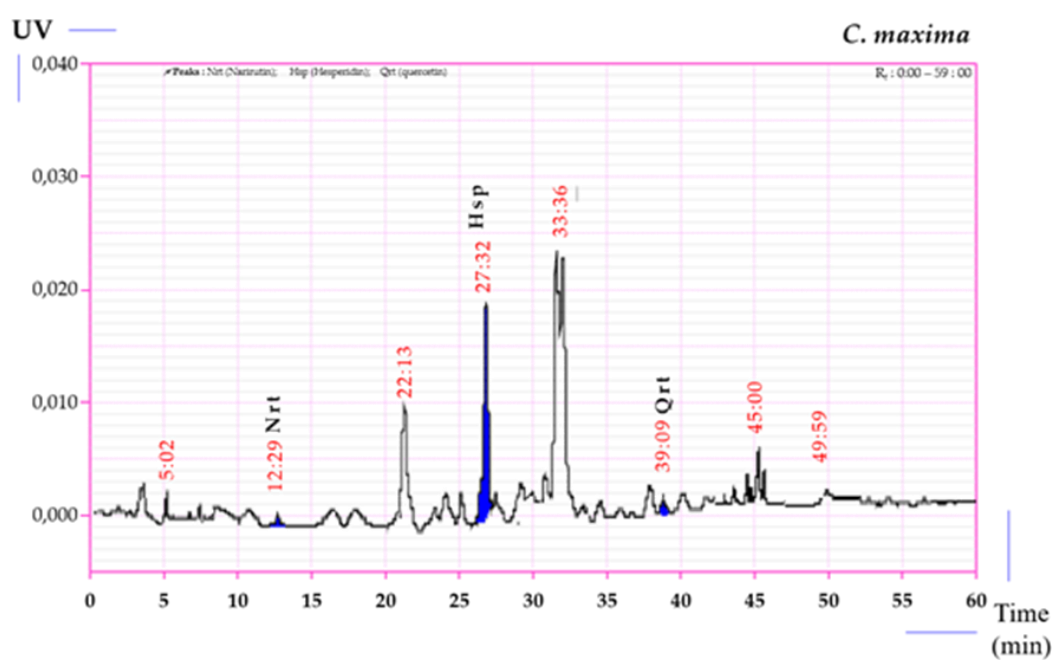


Figure 42. Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus maxima*

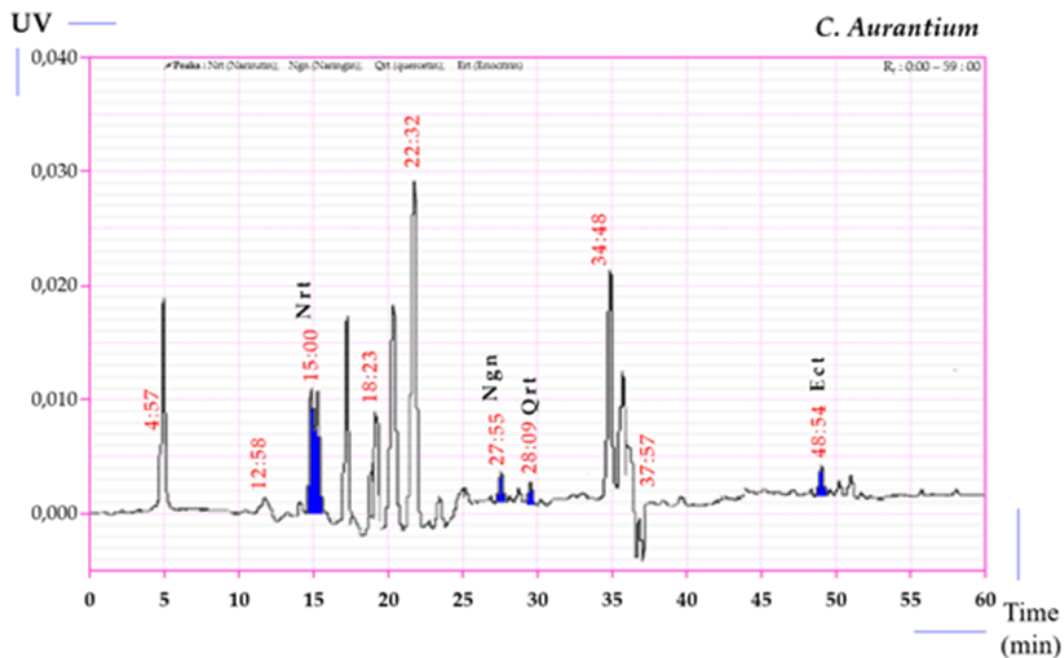


Figure 43. Profil chromatographique de jus de *Citrus aurantium*

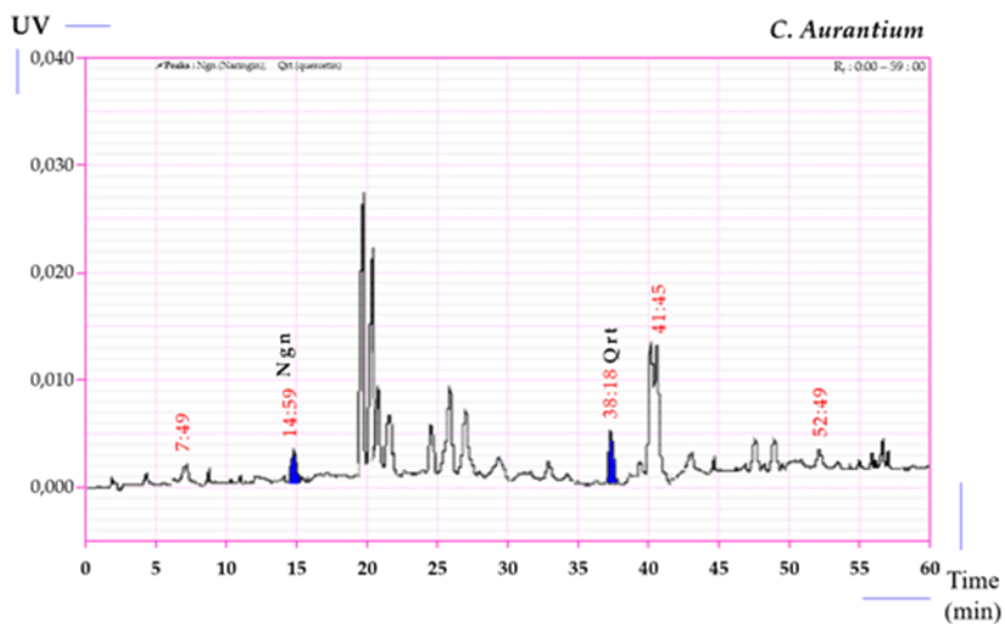


Figure 44. Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus aurantium*

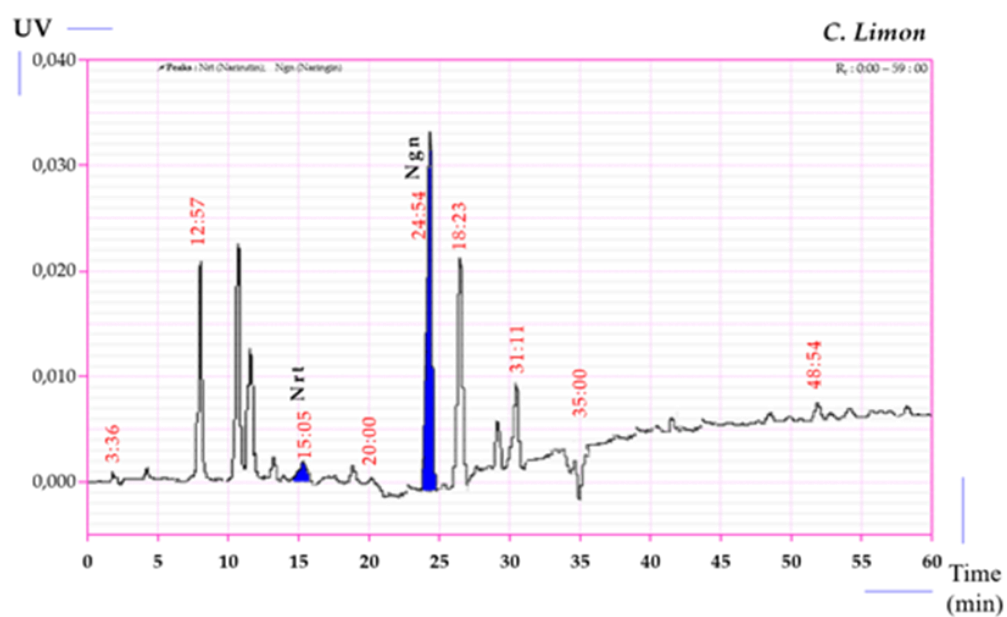


Figure 45. Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus limon*

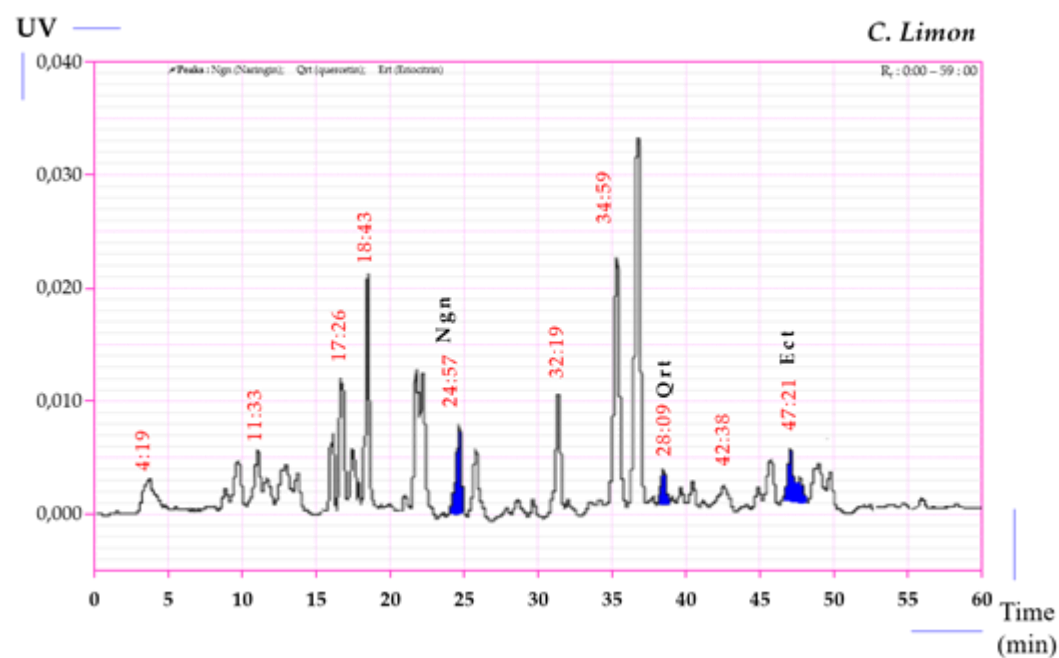


Figure 46. Profil chromatographique de jus de *Citrus limon*

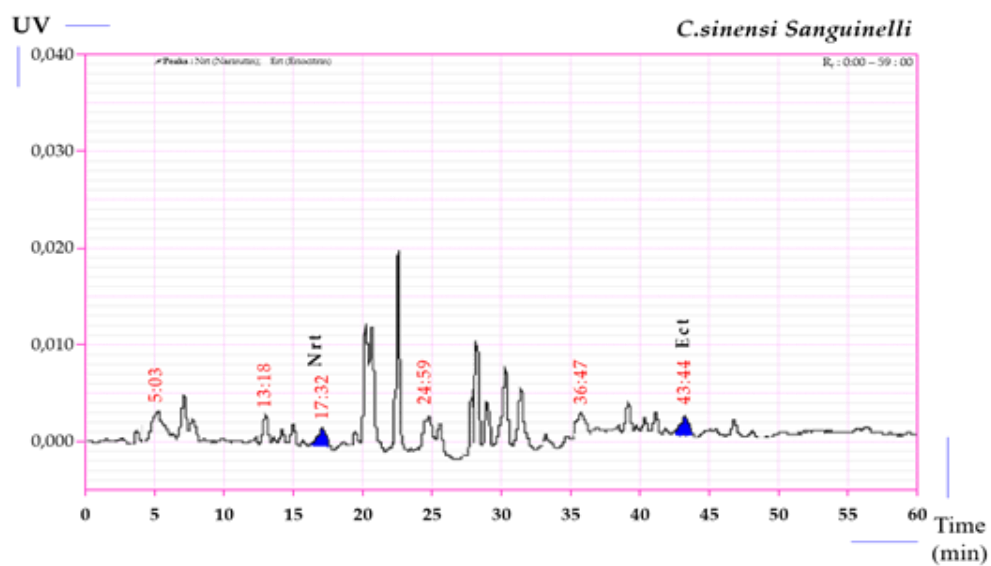


Figure 47. Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus sinensis sanguinelli*

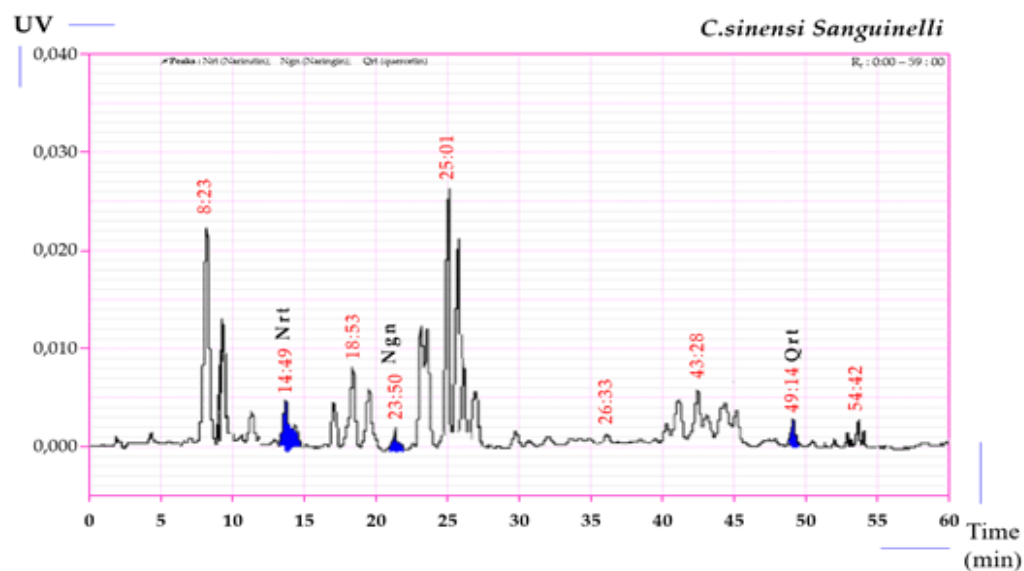


Figure 48. Profil chromatographique de jus de *Citrus sinensis sanguinelli*

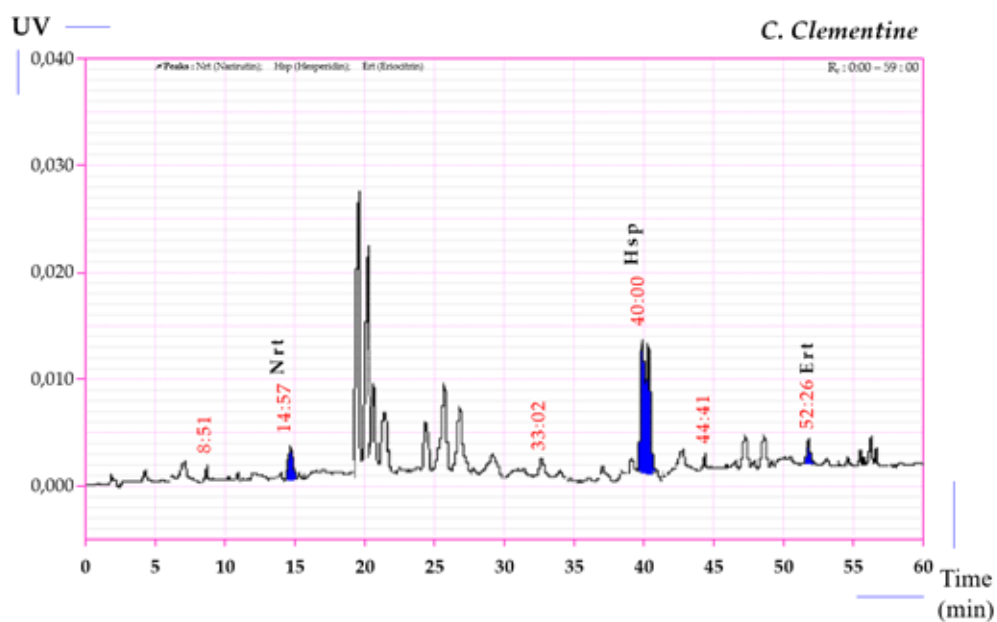


Figure 49. Profil chromatographique de jus de *Citrus clementine*

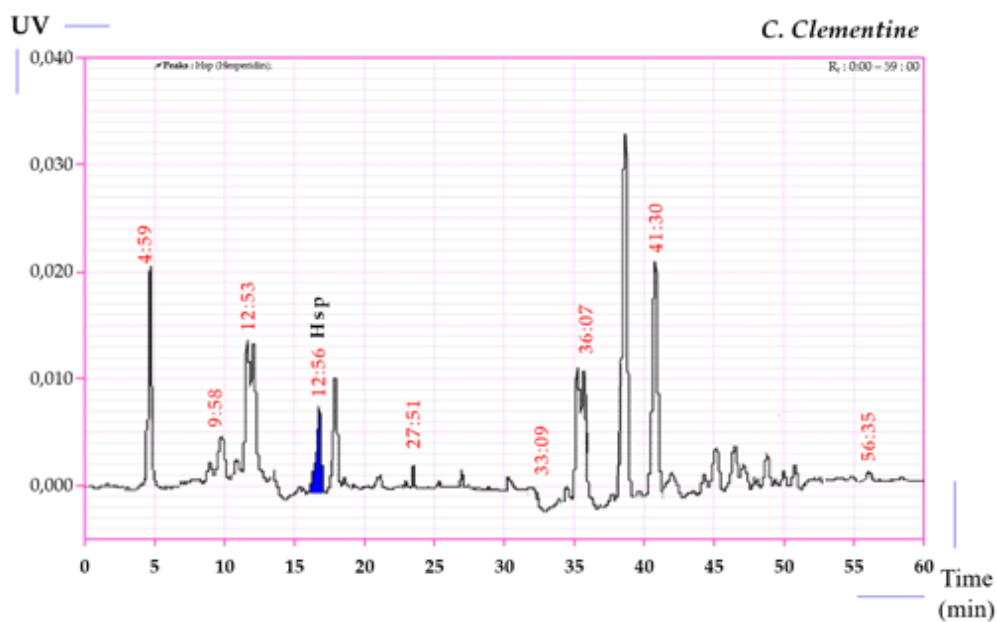


Figure 50. Profil chromatographique de l'extrait hydro-méthanolique des feuilles de *Citrus clementine*

4. Figures des résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits et jus de *Citrus* testés



Figure 51. Effets des extraits méthanoliques et des jus de *Citrus* sur *Micrococcus luteus* ATCC 533.

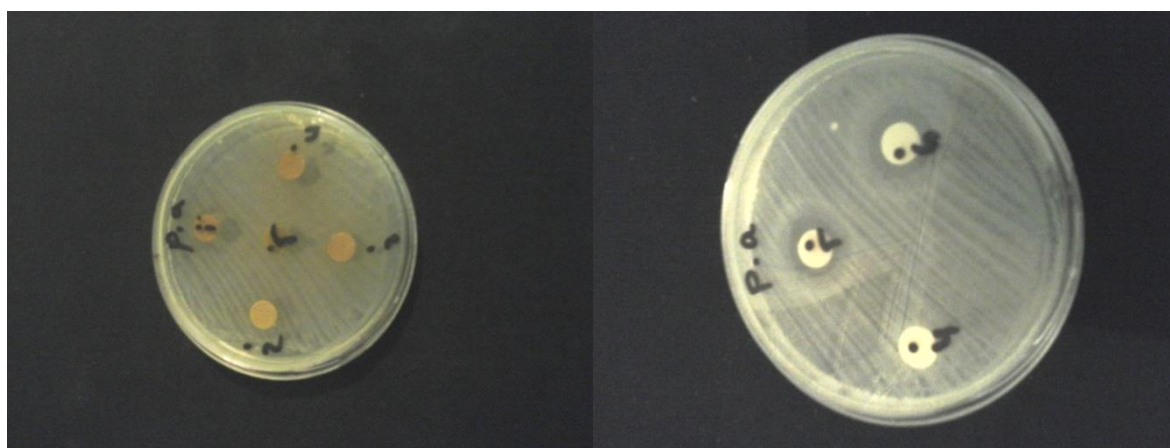


Figure 52. Effets des extraits méthanoliques et des jus de *Citrus* sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

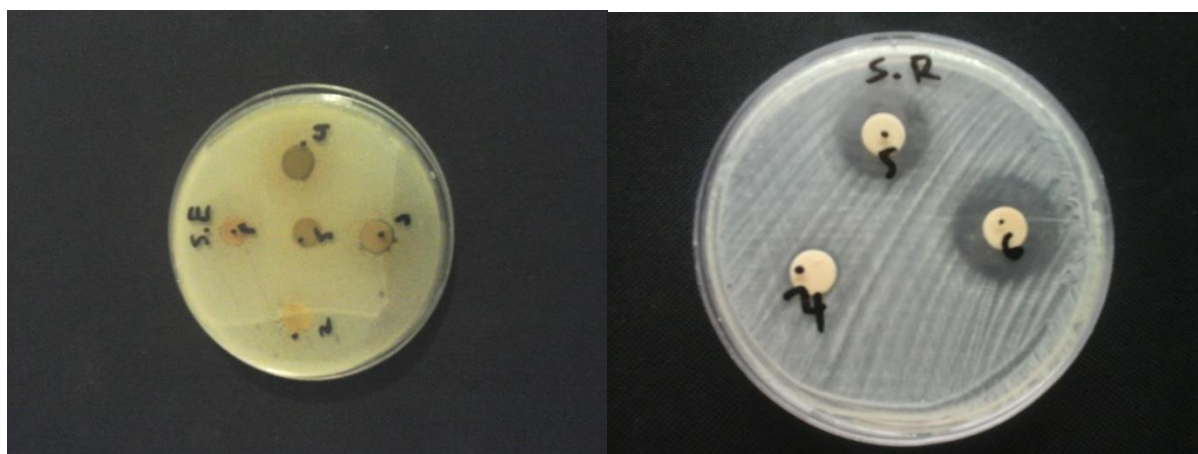


Figure 53. Effets des extraits méthanoliques et des jus de *Citrus* sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

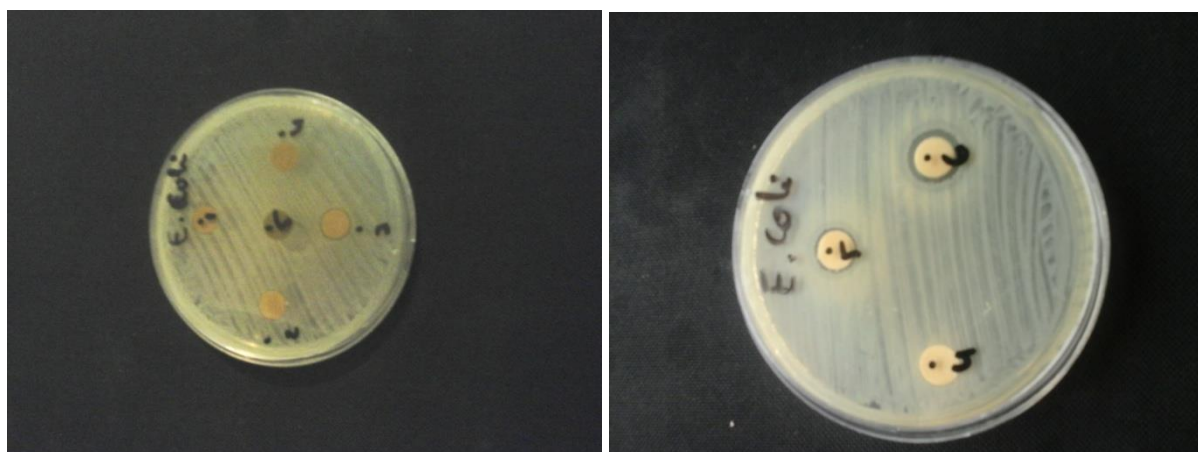


Figure 54. Effets des extraits méthanoliques et des jus de *Citrus* sur *Escherichia coli* ATCC 25922

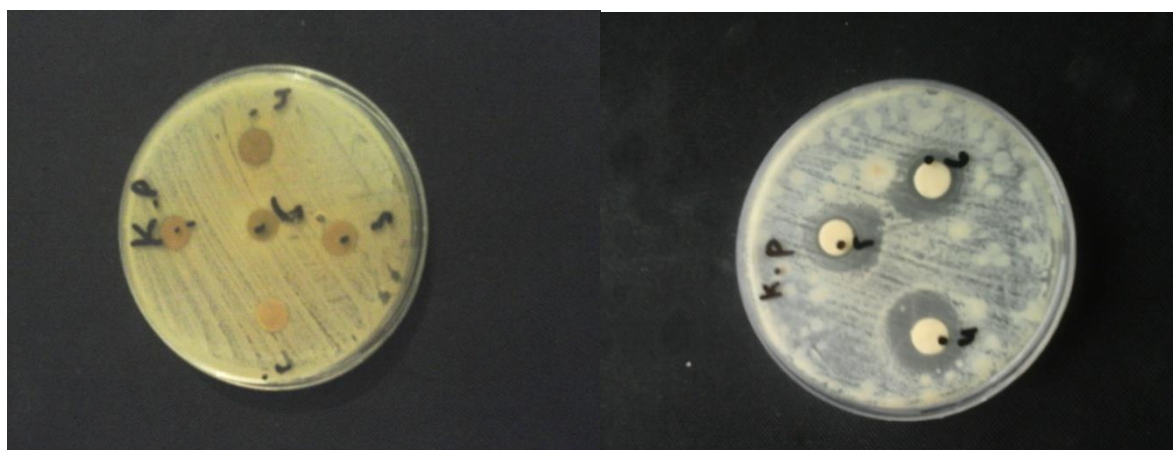


Figure 55. Effets des méthanolique et des jus de *Citrus* sur *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

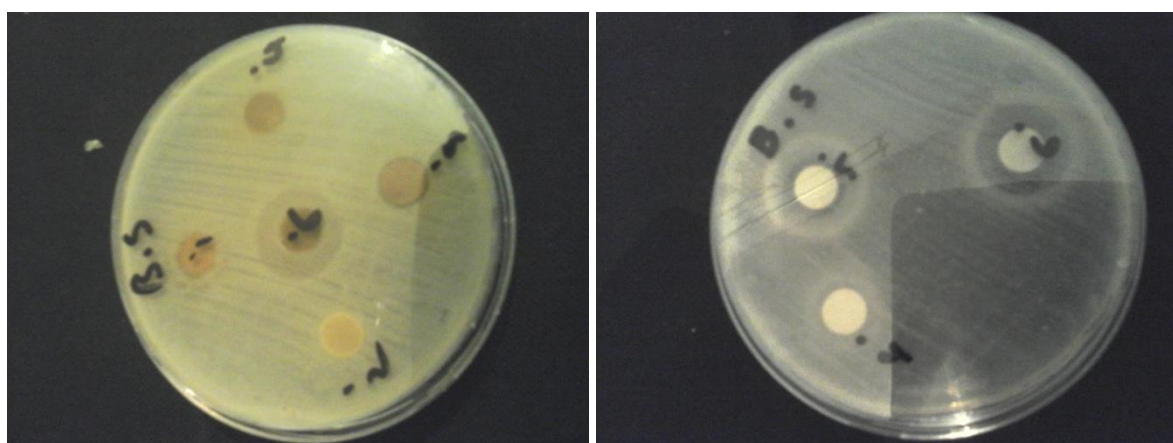


Figure 56. Effets des extraits methanolique et des jus de *Citrus* sur *Bacillus subtilis* ATCC 9378

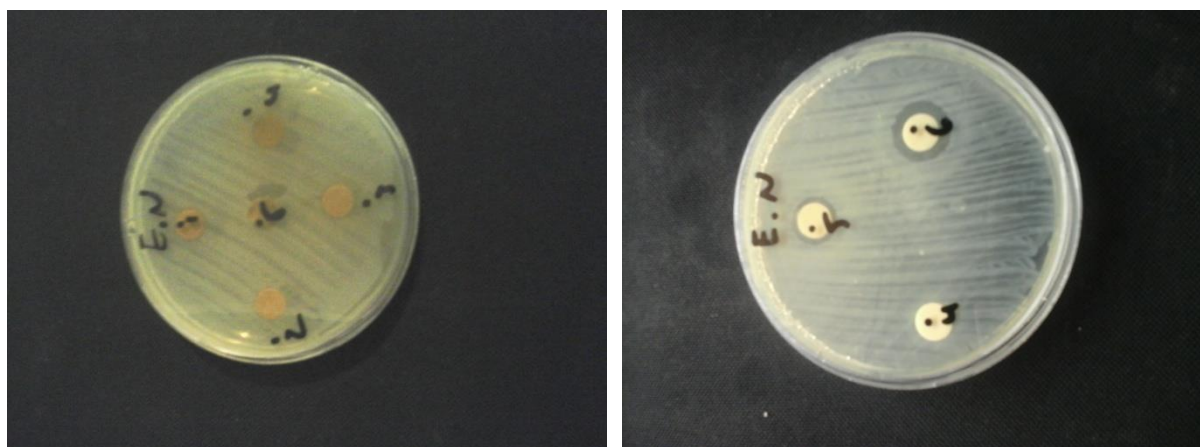


Figure 57. Effets des extraits méthanoliques et des jus de *Citrus* sur *Enterococcus faecalis* ATCC 494

Tableau 13. Résultats de concentration minimales inhibitrices des extraits hydro-méthanolique des Citrus vis avis des bactéries pathogènes

Les concentrations des extraits mg/ml	Les extraits hydro-méthanolique des cultivars des <i>Citrus</i>										
	Témoin (-)	Témoin (+)	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Bactéries pathogène											
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12223	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9378	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 533	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

(-) Absence de croissance

(+) Présence de croissance

Annexe II : Les tests *in vivo*

1. Activité hypocholestérolémiant et Hypoglycémiant

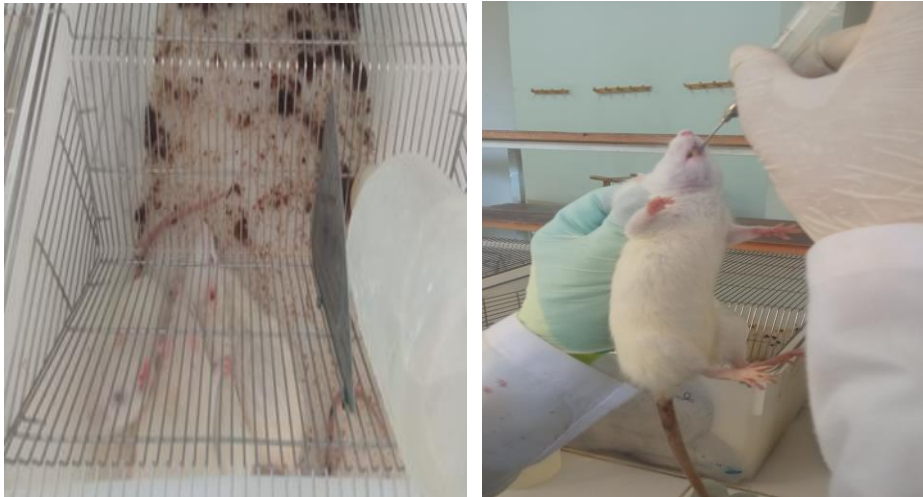


Figure 58. L'administration orale des extraits et des jus de *Citrus*.



Figure 59. Prélèvement du sang et sacrifice des rats

2. Etude des paramètres du stress oxydant

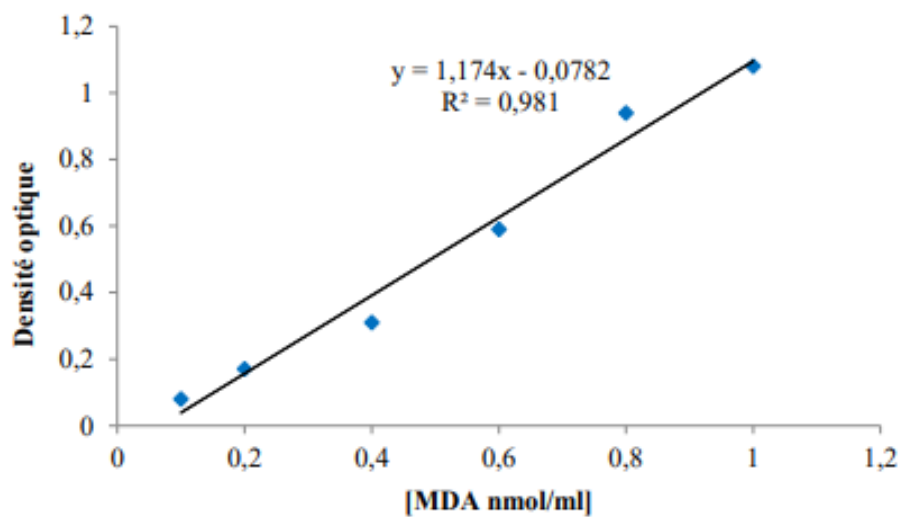


Figure 60. Courbe d'étalonnage du MDA avec le réactif TBA

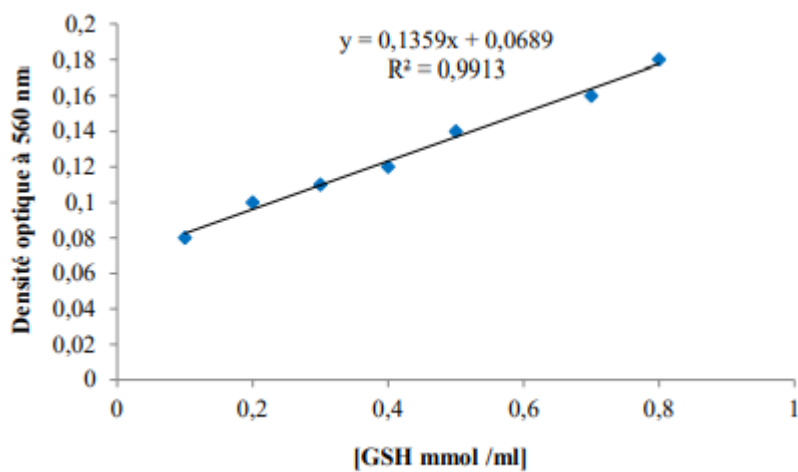


Figure 61. Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif DTNB

Tableau 17 : Variation de la glycémie durant 28 jours de traitement chez les rats diabétiques traités par les jus et l'extraits des feuilles.

Varieties	La glycémie g/l		
	Temps (semaine)	Jus	Extraits des feuilles
<i>C.sinensisThomson</i>	J+0	2,36±3,87	2,75±13,69
	J+14	2,30±14,50	2,72±7,61
	J+30	2,13±17,27*	2,67±5,99
<i>C.sinensisSanguinelli</i>	J+0	2,54±8,21	2,62±14,23
	J+14	2,48±22,41	2,54±13,12
	J+30	2,36±12,38	2,49 ±20,79
<i>C.aurantium</i>	J+0	1,34±7,14	1,45±5,09
	J+14	1,29±6,21	1,39±7,04
	J+30	1,19±2,41**	1,32±6,40**
<i>C.Limon</i>	J+0	1,44±6,36	1,47±6,09
	J+14	1,39±6,11	1,42±7,21
	J+30	1,31±5,13**	1,35±7,11*
<i>C.maxima</i>	J+0	1,08±3,82	1,20±3,29
	J+14	0,98±3,87**	1,13±5,34*
	J+30	0,79±3,72***	1,09±5,71**
<i>C.Clémentin</i>	J+0	1,83±6,63	2,36±3,87
	J+14	1,76±4,60	2,20±15,82*
	J+30	1,71±5,83**	2,01±12,35**
Témoins glucophage	J+0	0,97±7,27	0,97±7,27
	J+14	0,97±9,77	0,97±9,77
	J+30	0,99±9,99	0,99±9,99
Témoins diabetiques	J+0	2,99±16,10	2,99±16,10
	J+14	3,01±17,96	3,01±17,97
	J+30	3,01±17,82	3,01±17,82

Les valeurs sont données en Moyenne ± E.S.M. Test de student : ** $p < 0,01$ la différence est hautement significative, *** $p < 0,001$ la différence est très hautement significative. * groupes comparés au groupe témoin diabétique.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Cette thèse constitue la synthèse de six années de travail et a fait l'objet une Publication dans une revue internationale et de communications affichées dans des Congrès Nationaux et Internationaux

PUBLICATIONS

Nacera Haraoui^{1,2} · Rachida Allem² · Tarik Mohammed Chaouche¹ · Ahmed Belouazni³ (2019) *In-vitro* antioxidant and antimicrobial activities of some varieties citrus grown in Algeria. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*
<https://doi.org/10.1007/s13596-019-00379-9>

COMMUNICATIONS

- **Congre international sur La Valorisation et La Préservation de la biomasse(CI-VAPB) 5 et 6 Novembre 2017. Université Boumerdès**
Nacera HARAOU, Rachida ALLEM. Aspects nutritionnels et activités antioxydante des *Citrus* cultivées en Algérie.
- **Lers des Doctoriales des sciences de la nature et de la vie SNV le 08 Decembre 2018. Université Tlemcen**
Nacera HARAOU, Rachida ALLEM. *In vitro* Antioxidant and Antimicrobial activities of some varieties *Citrus* drown in Algeria.
- **VIII^{èmes} Journée Nationales des Sciences de la Natures et de la Vie les 9 et 10 Mai 2018.universite MOSAGANEM.**
Nacera HARAOU, Rachida ALLEM. Hypcholesterolemic properties of *Citrus* varieties cultivated in Algeria. *In vivo*.
- **Symposium International sur la recherché Antimimicrobienne (ISAR 2018) 2au 3 mai 2018.**
Nacera HARAOU, Rachida ALLEM . *In vitro* antimicrbial status of methanolic extrats of *Citrus ssp.* leaves and juice.

- **The First National Seminar of Nutrition and Health<< The research in the service of the nutrition and health>> 16-17 December 2019.**

Nacera HARAOU, Rachida ALLEM. Nutritional aspects of *Citrus* fruits and their effects on dyslipidemia in wistar rats.

- **Sixième MGIBR Workshop Internationale « Les plantes à parfum Aromatiques, Médicinales et condimentaires » Vertus et perspectives de développement par webinaire le 20-21 Décembre 2020 Tlemcen**

NACERA HARAOU, ALLEM R., LAISSAOUI A., FIZIR M Nutritional aspects of *Citrus* fruits and their effects on dyslipidemia and hypoglycemic in fat-fed rats

- **Second National Seminar of Agri Food and Microbiology of the Environment and presented a poster communication entitled: December 5th, 2022**

NACERA HARAOU ALLEM R., LAISSAOUI A., FIZIR Hypoglycemic and hypolipidemic effects of methanol leaves extract and juice of *Citrus* varieties in alloxan-induced diabetic Wistar rats.

- **The 2nd National Seminar of Nutrition and Health (NSNH1): improvement of health by nutrition (alicaments or nutraceuticals, food supplements, functional food, health foods, supervision) Le 30/05/2023 chlef.**

NACERA¹, HARAOU ALLEM RACHIDA², BOUZAR KOUADRI OMAR³, LAISSAOUI AICHA⁴, FIZIR MERIEM⁵: Nutritional aspects of *Citrus* fruits and their effects on dyslipidemia and oxidative stress and on liver damage in fat-fed rats.”.

