

Profil phytochimique de quelques espèces de *Citrus* (*C. aurantium*, *C. sinensis* et *C. limonum*)

DOUKANI K^k. & TABAK S¹

¹Laboratoire d'Agro-biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides, Université Ibn Khaldoun, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, BP 78 Zaaroura - Tiaret.

*Auteur correspondant : kouladoukani@gmail.com

Résumé: Ce travail vise à étudier le profil phytochimique des zestes de trois espèces d'agrumes à savoir *Citrus aurantium* (Orange amère), *Citrus limonum* (Citron) et *Citrus sinensis* (Orange douce) provenant de Relizane, Chlef et Tipaza respectivement.

Les résultats de dosage des composés phénoliques totaux des extraits méthanoliques des agrumes étudiés en utilisant le réactif de *Folin Ciocalteu* ont montré que le *C. limonum* est plus riche en composés phénoliques (32.92 ± 4.17 mg EAG/g d'extrait) par rapport aux *C. aurantium* et *C. sinensis* qui ont donné des valeurs de 27.79 ± 0.11 mg EAG/g d'extrait et 23.27 ± 0.79 mg EAG/g d'extrait respectivement.

L'activité antioxydante des extraits de *Citrus* étudiés évaluée par la méthode de FRAP, a révélé un potentiel antioxydant important pour *C. limonum* (2.07 mol EAA/g d'extrait) comparativement aux *C. aurantium* (1.28 mol EAA/g d'extrait) et *C. sinensis* (0.39 mol EAA/g d'extrait).

Mots clés : *Citrus*, phytochimie, activité antioxydante, composés phénoliques.

Abstract: This work aims to study the phytochemical profile of the peels of three *Citrus* species; *Citrus aurantium* (Bitter orange), *Citrus limonum* (lemon) and *Citrus sinensis* (Sweet orange) which derived from Relizane, Chlef and Tipaza respectively.

The results of the total phenolic compounds content of the citrus methanolic extracts using the *Folin Ciocalteu* reagent showed that *C. limonum* is richer in phenolic compounds (32.92 ± 4.17 mg GAE/g extract) compared to *C. aurantium* and *C. sinensis* which gave values of 27.79 ± 0.11 mg GAE/g extract and 23.27 ± 0.79 mg GAE/g extract respectively.

The antioxidant activity of the *Citrus* extracts evaluated by the FRAP method revealed an antioxidant potential for *C. limonum* (2.07 mol AAE / g extract) compared to *C. aurantium* (1.28 mol AAE/g extract) and *C. sinensis* (0.39 mol EAA/g extract).

Key words: *Citrus*, phytochemistry, antioxidant activity, phenolic compounds.

Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (Schauenberg et Paris, 2006). Après quelques siècles de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, ce qui est le cas de toutes les plantes. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997). Mais leurs usages traditionnels

n'ont jamais disparus, bien au contraire. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en

2008, 80 % de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires. Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydante demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine et les traditions médicinales folkloriques. Ces plantes représentent une nouvelle source des composés actifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (Pierangeli et Rivera, 2009).

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle ; qui elle-même est largement employée dans divers problèmes de santé, parmi ces plantes on cite les agrumes. Ils couvrent actuellement une superficie de 63.296 ha, soit environ 6.8% de la superficie totale occupée par l'arboriculture fruitière. Les agrumes jouent un rôle très important et essentiel dans l'alimentation, la santé humaine, l'industrie agroalimentaire et les revenus économiques par le biais de l'exportation (FAO, 2012). Les zestes des agrumes sont considérées comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire et anticancéreux (Lako et al., 2007).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier certaines espèces d'agrumes dans différentes régions d'Algérie ; Chlef, Relizane et Tipaza qui en sont riches afin d'évaluer l'effet antioxydant de leur zestes.

Matériel et méthodes

1. Matériel

Trois espèces de Citrus: *C. limonum* (Citron), *C. aurantium* (Orange amère) et *C. sinensis* (Orange douce) provenant d'exploitations agricoles privées situées dans trois différentes régions (Sidi Moussa (Tipaza), Matmar (Relizane) et Chetia (Chlef)) respectivement et récoltées au mois de Février 2015 ont été utilisés dans notre étude (Figure 1).



Figure 1. Les trois espèces de Citrus étudiés.

Les fruits fraîchement récoltés au hasard, sont nettoyés, lavés, triés et séchés avec une serviette de coton propre. Les zestes résultants (la partie externe des agrumes) ont été découpés en petits morceaux, séchés à l'air libre et à l'obscurité (à l'abri de la lumière) puis finement broyés à l'aide d'un broyeur électrique et conservés pour des analyses ultérieures (Figure 2).



Figure 2. Les zestes découpés pour le séchage.

2. Méthodes

a. Préparation des extraits des zestes de Citrus étudiés

10 g d'échantillon finement broyés ont été additionnés à 50 ml du méthanol (95%).

Après agitation pendant 24h à une température ambiante et à l'obscurité, une centrifugation à 5000 trs/min pendant 10 min, puis filtration par papier filtre Whatman no 1 ont été réalisés, le filtrat a été récupéré (Ribereau-Gayon, 1968).

b. Détermination du taux de composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux est réalisé par la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Dans un tube à essai, 2.5 ml de Folin Ciocalteu (dilué dix fois) a été ajouté à 0.5 ml de chaque extrait. Après 3 minutes, 1ml de carbonate de sodium (20%) a été ajouté ; le mélange a été incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'obscurité et l'absorbance a été mesurée à 760 nm. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique (mg EAG/100gd'extrait) en utilisant l'acide gallique comme standard.

c. Estimation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits est quantifiée par le biais de la méthode dite « FRAP » (Ferric Reducing Antioxydant Power) préconisée par Yildirim et al (2001) où 1ml de chaque extrait de nos échantillons est 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 $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20min, puis refroidi à une température ambiante. 2.5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 trs/min pendant 10 min. 2.5 ml du surnageant sont ajoutés à 2.5 ml d'eau distillée

et 0.5 ml d'une solution de chlorure de fer (FeCl_3 , $6\text{H}_2\text{O}$) à 0.1%. La lecture des absorbances se fait à 700 nm en utilisant La vitamine C comme standard. L'activité antioxydante est exprimée en mole équivalent d'acide ascorbique (mol EAA/g d'extrait).

Résultats et discussion

1. Teneur en composés phénoliques totaux

Les résultats obtenus ont montré que la concentration en composés phénoliques totaux enregistrée dans *C.limonum*, *C.aurantium* et *C.sinensis* est de 32.92 ± 4.17 , 23.27 ± 0.79 et 27.79 ± 0.11 mg EAG/g d'extrait respectivement.

La valeur la plus faible en composés phénoliques a été enregistrée dans *C.sinensis* (23.27 ± 0.79 mg EAG/g d'extrait). Par contre, la plus forte concentration a été 32.92 ± 4.17 mg EAG/g d'extrait dans *C.limonum*.

La teneur en composés phénoliques de l'orange amère et la sanguine avec une extraction par mélange méthanol /eau (v/v) (20/80), sont 4.281 et 5.292 mg EAG/g d'extrait respectivement

(Oukrid et Aoudia, 2007). Ces valeurs sont nettement inférieures à celles trouvées dans nos Espèces de *Citrus*. Ouerdane et Ramdani (2007) ont montré que la concentration en composés phénoliques pour la pamplemousse de Tizi-Ouzou est située dans l'intervalle 0.82 à 1.83 mg EAG/g d'extrait, mais Haddadi (2004), a trouvé une valeur de 6.38 mg EAG/ g d'extrait pour la même espèce (pamplemousse de Tizi-Ouzou). Wang et al (2007) ont enregistré une teneur en composés phénoliques plus élevée dans le citron qui est 75.9 mg EAG/g d'extrait. Cette valeur est plus élevée à celle trouvé dans la même espèce utilisée notre même espèce. La teneur totale en phénol dépend du milieu d'extraction utilisé et de la polarité des solvants d'extraction. La durée d'extraction, la méthode d'analyse ou d'extraction et l'état de la matière végétale peuvent également influencer le contenu des composés phénoliques (Shi et al., 2005). D'autres études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que des facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga et Mosase, 2001).

Les polyphénols occupent une place importante dans l'industrie des aliments, et des produits pharmaceutiques, et ils ont des propriétés anti-inflammatoires, et anti-cancérogènes. D'autres propriétés sont associées aussi aux polyphénols telles que : anti-allergiques, antimicrobiennes, antioxydantes, anti-thrombotiques, et interviennent dans la prévention des maladies cardiovasculaires (Balasundram et al., 2006).

2. Activité antioxydante

Les valeurs d'activité antioxydante des espèces de *Citrus* étudiés ; *C.limonum*, *C.sinensis* et *C.aurantium* sont de 2.07, 0.39 et 1.28 mol EAA/g d'extrait respectivement. Il y avait des différences entre les valeurs d'activité antioxydante de différentes espèces de *Citrus*, ce qui suggèrent-elles ont des potentiels antioxydants différents. Le *C.limonum* la valeur d'activité antioxydante la plus élevée par rapport aux *C.aurantium* et *C.sinensis*, ce qui indique sa grande réduction et son potentiel antioxydant puissant. La valeur la plus faible a été enregistrée dans le *C.sinensis*. Contrairement à nos résultats, Li et al (2006) ont montré dans leur étude sur les mêmes espèces, que le pouvoir réducteur du *C.aurantium* est plus important que celui du *C.limonum*.

D'après Oukrid et Aoudia (2007), l'extraction par le mélange méthanol /eau (40/60)(v/v)

a permis d'avoir un pouvoir réducteur de 1.58×10^{-4} et 4.89×10^{-4} mol EAA/g d'extrait pour l'orange sanguine et l'orange amère respectivement. Nous constatons que ces valeurs sont nettement inférieures à celles trouvées dans notre étude.

Les différences de l'activité antioxydante des *Citrus* peuvent être attribuées à la présence des différents composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, et d'autres composés phénoliques qui ont différents effet antioxydants (Ouerdane et Ramdani, 2007). Les composés phénoliques sont les principaux facteurs responsables des activités antioxydantes. Généralement, une activité antioxydante plus élevée est trouvée dans le *C.limonum* et les variations dans les activités antioxydantes des autres espèces de *Citrus* sont dues à la nature quantitative et qualitative de leur contenu phénolique sans oublier l'effet de la vitamine C (Haddadi, 2004). Les agrumes contiennent de la vitamine C, associée à divers phytonutriments : caroténoïdes, polyphénols spécifiques et acides phénoliques (les acides galliques, procatechique, p-hydroxybenzoïque, vanillique, caffeique, p-coumarique, salicylique, ferulique, sinapique et anisique) (Wang et al., 2007). La quantité de ces acides est plus importante dans l'écorce que dans la pulpe et l'acide férulique est le composé majoritaire (Gorinstein et al., 2003). L'activité antioxydante des extraits végétaux dépend du type et de la polarité des solvants d'extraction, la procédure d'extraction, la pureté des composés actifs, la technique d'essai et le type d'échantillon utilisé (Ismail et Haber, 2004).

Conclusion

D'après notre étude, il s'avère que l'extrait méthanolique de *C.limonum* est riche en composés phénoliques et a un puissant potentiel antioxydant par rapport aux *C.aurantium* et *C.sinensis*.

De nombreuses perspectives peuvent être envisagées telles que : Détermination de l'activité antioxydante de ces extraits d'agrumes par d'autres tests tels que le test de DPPH, identification des différents antioxydants dans les zestes de ces agrumes, détermination de l'activité antioxydante dans d'autres espèces d'agrumes et évaluation d'autres activités biologiques des extraits d'agrumes et leurs huiles essentielles (activité antibactérienne, activité antifongique, activité antiparasitaire, effet insecticide.. etc).

Références bibliographiques

Aganga A.A., Mosase K.W., 2001. Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91:107-113.

Balasundram N., Sundram K., Samman S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.

FAO., 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Guide conçu grâce au financement de la FAO–Algérie Regional Integrated Pest Management Programme in the Near East / GTFS/REM/070/ITA, Janvier 2012.

Gorinstein S., Yamamoto K., Katrich E., Leontowicz H., Lojek A., Leontowicz M., Ciz, M., Goshev I., Shalev U., Trakhtenberg S., 2003. Antioxidative properties of Jaff Sweeties and Grapefruit and their influence on lipid metabolism and plasma antioxidative potential in rats. *Bioscience. Biotechnology. Biochemistry.* 67(4): 907-910.

Haddadi H., 2004. Détermination de l'activité antioxydante de quelques fruits. Mémoire de Magister en Biochimie-Microbiologie. Université Abderrahmane Mira. Béjaia.72 p.

Ismail R., Haber J., 2004. Détermination des composés phénoliques des plantes aromatiques par RP-HPLC et GC-MS. *Chimie Alimentaire.* 95: 44-52.

Lako, Jimaima V., Trenerry V.C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran Subramaniam., Premier R., 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101 (4): 1727-1741.

Li B.B., Smith B., Hossain M., 2006. Extraction of phenolics from citrus peel, I. Solvent extraction method. *Separating and Purification Technology*, 48: 182-188.

Maurice N., 1997. De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIème siècle. Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp.12- 14.

Ouerdane S., Ramdani F., 2007. Etude du pouvoir antioxydant de deux agrumes : le citron et le pamplemousse. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Contrôle de Qualité et Analyse .Université Abderrahmane Mira - Bejaia.45p.

Oukrid A., Aoudia F., 2007. Evaluation du pouvoir antioxydant de deux variétés d'oranges. Mémoire d'Ingénieur en Sciences Alimentaires. Université Abderrahmane Mira. Béjaia.39p.

Pierangeli G. Vital., Windell L. Rivera., 2009. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. *Extracts. J. Medicinal Plants Res*, 3(7) : 511-518.

Ribereau Gayon, P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux .Ed. Dunod. Paris. 254 p.

Schauenberg P., Paris F., 2006. Guide des plantes médicinales. Ed. Dalachaux et Nieslé .Paris. 330 p.

Shi J., Nawaz H., Pohorl J., Mittal G., Kakuda Y., Jiang Y., 2005. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. *Food Review International*, 21(1): 139-166.

Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with Phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of enology and Viticulture*, 16:144-158.

Wang Y.C., Chuang Y.C., Ku Y.H., 2007. Quantitation of bioactive compounds in Citrus fruit cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, 102 (4) : 1163-1171.

Yildirim A., Mavi A., Kara A.A., 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (8): 4083-4089.