
Soumis le : 02/10/2016

Forme révisée acceptée le : 13/08/2017

Auteur correspondant : laghasamira@gmail.com

Nature & Technology

<http://www.univ-chlef.dz/revuenatec>

Caractérisation chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles

LAGHA-BENAMROUCHE Samira^{a,b,c,*}, ADDAR Lydia^a, BOUDERHEM Hassiba^a,
TANI Saïda^a, MADANI Khodir^c

^a *Department of Biology, Faculty of Sciences, M'Hamed Bougara University, Boumerdes 035000, Algeria*

^b *Research Laboratory Soft Technology, Valorization, Physicochemistry of Biological Materials and Biodiversité, Faculty of Sciences, UMBB University, Boumerdes 35000, Algeria*

^c *Laboratory of Biochemistry, Biophysics, Biomathematics and Scientometry (3BS laboratory), Faculty of Nature and Life Sciences, Abderahmane Mira University, Bejaia 06000, Algeria*

Résumé

Dans la présente étude nous nous sommes intéressées à la valorisation des écorces de quelques variétés d'oranges provenant de la région de Bejaia (Washington, Thomson, Double fine, Portugaise, Jaffa, Sanguinelli et Bigarade). De ce fait nous avons procédé à une étude phytochimique qui nous a permis de mettre en évidence la richesse des écorces en composés bioactifs (composés phénoliques, terpénoïdes, sucres et mucilages). Nous avons également extrait les huiles essentielles à partir des écorces fraîches par hydrodistillation. La variété Jaffa s'avère la plus riche en huiles essentielles, nous avons enregistré un rendement de 1,48 %. La variété Thomson s'est avéré la plus pauvre en huiles essentielles avec un rendement de 0,39 %. La variété Double fine présente l'activité antioxydante la plus intéressante (74,46 %). L'analyse chromatographique des huiles essentielles de Double fine par GC-MS a permis d'identifier dix composants dont le limonène est le constituant majoritaire (89,81 %).

Mots-clés : Écorce, Orange, Screening phytochimique, Huiles essentielles, Activité antioxydante, GCMS.

Abstract

In this study we are interested in the recovery of some orange peel varieties from the region of Bejaia (Washington, Thomson, Double Fine, Portuguese, Jaffa, Sanguinelli and Bitter). Thus, we carried out a phytochemical study which enabled us to demonstrate the richness of the peel in bioactive compounds (terpenoids, sugars and mucilage). We also extract the essential oils from the fresh peel by steam distillation. The Jaffa variety is the richest in essential oils, with a yield of 1.48%. Thomson variety proved to be the lowest of essential oils with a yield of 0.39%. We tested radical scavenging activity of essential oils extracted from peels of the studied varieties. Double fine variety has the most interesting antioxidant activity (74.46%). The chromatographic analysis of Double fine essential oils by GC-MS identified ten components of which limonene is the major constituent (89.81%).

Keywords: Peel, Orange, Phytochemical screening, Essentials oils, antioxidant activity, GC-MS.

1. Introduction :

Les agrumes représentent l'une des récoltes de fruits les plus importantes dans le monde. Leur production mondiale est estimée à plus de 115 millions de tonnes par an dont 517 milles tonnes ont été produits en Algérie. Cette dernière occupe la 19^{eme} place mondiale et la 2^{eme} dans l'Union Maghrébin Arabe. Les agrumes incluent les

citrons, les mandarines, les pomelos, les cédrats, les oranges, les pamplemousses et les limes ...etc. [1]. Les oranges sont les plus consommées en raison de leur bonne saveur, leur valeur nutritive élevée et leur composition riche en molécules bioactives (plus de 170 composés phytochimiques sont décrits) [2, 3]. Elles sont consommées comme dessert (fruit frais), confiture ou jus [4].

La consommation et l'industrie de transformation des agrumes génèrent de gigantesques masses de sous-produits tels que les écorces, les pulpes et les pépins. Ces derniers présentent une marge de 45 à 60 % du fruit entier et qui sont souvent rejetés dans la nature [5, 6]. Au cours de la transformation des agrumes, les écorces sont les sous produits primaires, non traitées, elles deviennent une source de pollution environnementale [7, 8]. Les écorces sont utilisées comme mélasse pour l'alimentation des animaux, fibres (pectine) et pour la production du carburant [9]. Des études récentes ont montré que ces écorces sont une source de composés biologiquement actifs. Elles sont riches en vitamine C et en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques en particuliers les flavonoïdes et les huiles essentielles [10, 11]. Ces dernières sont les composés les plus importants grâce à leurs diverses activités biologiques tels que les activités antimicrobienne, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydante [12]. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressées à la composition phytochimique des écorces et aux huiles essentielles extraites à partir du flavédo des différentes variétés visant leur activité antioxydante et leur intérêt pour la santé du consommateur.

2. Matériels et méthodes

2.1. Étude phytochimique

Les différents groupes chimiques ont été caractérisés en se référant aux techniques décrites dans les travaux de Ronchetti et Russo (1971), Hegnauer (1973), Wagner (1983) et Békro *et al.* (2007) citées par N'Guessan *et al.* et Ashok kumar *et al.* [9, 13].

2.1.1. Composés phénoliques

2.1.1.1. Tanins

Un millilitre de chlorure ferrique (1 %) est ajouté à 5 ml d'infusé de 20 min (5 %). L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indique la présence des tanins totaux [9]. 1 ml de l'infusé à 5 % est évaporé à sec. Le résidu obtenu est mélangé avec 3 ml du réactif de Stiasny. L'ensemble est maintenu au bain-marie à 80-100 °C pendant 30 min. L'observation d'un précipité en gros flocons rouge caractérise les tanins catéchiques. 5 ml de l'infusé à 5 % sont saturés d'acétate de sodium (2 g). L'apparition d'une coloration bleu-noir intense après

l'addition de 3 gouttes de chlorure ferrique indique la présence de tanins galliques [13].

2.1.1.2. Flavonoïdes

A 5 ml d'infusé de 20 min (5 %), 5 ml d'alcool chlorhydrique et quelques copeaux de magnésium sont ajoutés. L'apparition d'une coloration rose orangée indique la présence de flavonoïdes. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique intensifiée cette coloration et confirme la présence de flavonoïdes [9]. A 5 ml d'infusé de 20 min (20 %), on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré. Une coloration rouge plus au moins intense indique la présence des anthocyanes (en présence de quelques gouttes d'ammoniac une coloration bleu vert indique leur présence).

2.1.1.3. Coumarines

1g de poudre légèrement humidifié est placé dans un tube à essai. Ce dernier est recouvert avec un papier filtre imbibé d'une solution de soude caustique (1M). Après, un chauffage au bain marie pendant quelques minutes (10-15 min), le papier filtre est examiné sous lampe UV à 365 nm. La fluorescence jaune confirme la présence des coumarines [14]¹.

2.1.2. Alcaloïdes

Cinq grammes de poudre végétale sont macérés pendant 24 h dans 100 ml d'éthanol dilué (70 %) et acidulé, à la température ambiante du laboratoire. Le macéré est filtré et lavé puis évaporé à sec. Le résidu est repris dans quelques millilitres d'acide chlorhydrique (50 %). La formation d'un précipité jaune après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer indique la présence des alcaloïdes [16].

2.1.3. Saponosides

On introduit dans 10 tubes à essais successivement de 1 à 10 ml du décocté à 1 % (décocté de 15 min). Le volume de chaque tube est complété à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est soumis d'abord à une agitation horizontale en raison de 2 agitations par seconde pendant 15 secondes, après à une deuxième agitation verticale de la même manière. La hauteur de la mousse formée dans chaque tube est mesurée 15 min après l'agitation [9]. L'indice de mousse (Im) est calculé à partir des tubes

¹ Cité dans [15].

ayant une hauteur de mousse supérieure ou égal à 1cm par la formule :

$$I_m = 1000/N \times h \quad (1)$$

avec N : Numéro du tube dans lequel la hauteur de la mousse est supérieure ou égal à 1 cm. h : hauteur de mousse en cm.

2.1.4. Mucilages

Un millilitre de décocté (10 %) (Décocté de 15 min) est mélangé avec 5 ml d'éthanol absolu, l'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages [17].

2.1.5. Sucres

2.1.5.1. Composés réducteurs

Cinq millilitre du décocté de 15 min (10 %) sont évaporés à sec. Le résidu est humidifié avec quelques gouttes d'eau puis 2 ml de réactif de Fehling sont ajoutés. Le mélange est secoué et chauffé au bain-marie pendant 10 min. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs totaux (protocole modifié de Ashok Kumar *et al.* [9]).

2.1.5.2. Oses et holosides

Cinq millilitre du décocté de 15 min (10 %) sont évaporés à sec, ensuite 2 à 3 gouttes d'acide sulfurique concentré et 2 à 3 gouttes d'alcool saturé de thymol sont ajoutées au résidu. apparition d'une coloration rouge indique la présence des oses et holosides [17].

2.1.6. Terpénoïdes

2.1.6.1. Stérols et tri-terpènes

Deux grammes de poudre sont macérés dans 25 ml d'éthanol absolu pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire. Après macération 1 ml d'acide acétique est ajouté à 5 ml du filtrat évaporé, puis 0,5 ml d'acide sulfurique sont additionnés. La présence des stérols se traduit par la formation d'un anneau pourpre virant du vert au bleu-vert [13]. Pour les tri-terpènes, l'expérience suivante a été réalisée : à 2,5 ml du filtra précédent, 1,5 ml d'acide sulfurique et quelques gouttes de chloroforme sont

ajoutés délicatement. La formation d'un anneau marron à l'interface indique la présence des tri-terpènes (protocole modifié de Ashok kumar *et al.* [9]).

2.1.6.2. Caroténoïdes

Cinq grammes de poudre sont macérés dans 62,5 ml d'éther de pétrole pendant 24 heures. Après filtration et évaporation du solvant, le résidu est récupéré par 1 ml d'eau distillée (extrait). 3ml d'acide chlorhydrique (1 %) et 3 ml d'acide sulfurique (98 %) sont incorporés délicatement à l'extrait. L'apparition d'une coloration bleu-vert indique la présence des caroténoïdes [18].

2.2. Activité antioxydante des huiles essentielles

L'activité antioxydante des huiles essentielles, extraites par hydrodistillation, a été effectuée par la méthode de Sanchez-Moreno *et al.* [19]. 100 µl des huiles essentielles testées à différents taux de dilutions (1/1, 1/2 et 1/4) sont ajoutés à 3,9 ml de DPPH (1,1-diphényl 1-2-picrylhydrazyl) (0,06 µM). Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min. La décoloration de la solution est mesurée à 515 nm contre un blanc préparé de la même manière que l'échantillon en remplaçant les huiles essentielles par le méthanol. La valeur CE₅₀ est définie comme étant la concentration efficace de l'échantillon ou du standard capable de réduire 50 % de l'activité de DPPH. Les CE₅₀ sont calculées à partir des courbes à régression linéaire.

2.3. Analyse chromatographique des huiles essentielles par CPG-MS

Les huiles essentielles de la variété d'orange qui a présenté l'activité antioxydante la plus élevée a été choisie pour l'identification par l'analyse chromatographique (CPG-SM). Notre choix s'est porté sur la variété Double fine.

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est un appareil du type GC6890 N (HP Agilent Technologies), équipé d'une colonne capillaire HP5 (5 % de phényl et 95 % methylpolysiloxane) de longueur de 30 m et de diamètre interne de 0,25 mm et l'épaisseur de film de la phase stationnaire qui est de 0,25 µm. La CPG est couplée à un spectromètre de masse (SM) de type SM -5973 N (HP Agilent Technologies) avec un détecteur Scan à impact d'électron. Les conditions analytiques sont les

suyvantes : Le gaz vecteur qui constitue la phase mobile est l'Hélium réglé à un débit de 1,3 ml/mn. La programmation de la température est comme suite : la température de l'injecteur est de 250 °C, et l'injection se fait en mode « split ». Initialement la température du four est maintenue à 38 °C en isotherme pendant 5 mn, puis l'augmentation de la température se fait graduellement à un taux de 6 °C/mn jusqu'à 250 °C, puis en isotherme pendant 50 mn. La température de l'interface est de 280 °C et la température de la source est de 230 °C. La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV.

2.4. Étude statistique

L'analyse statistique des résultats est réalisée au moyen du logiciel STATISTICA 5.5 et le degré de signification est pris à la probabilité (* $p \leq 0,05$). Nous avons procédé à une analyse de la variance e à un facteur.

3. Résultats et discussion

3.1. Étude phytochimique

Les résultats du tableau 1 révèlent la présence des composés phénoliques (tanins, flavonoïdes et coumarines), des terpénoïdes (stérols, tri-terpènes et caroténoïdes), des sucres (sucres réducteurs, oses et holosides) et des mucilages dans toutes les écorces des variétés étudiées, avec des proportions variables. Pour les autres constituants : Saponosides et alcaloïdes, l'étude ne détecte pas leur existence. Les tanins sont présents dans toutes les variétés étudiées, sous formes de tanins totaux, catéchiques et galliques. La variété Bigarade s'avère la plus riche comparée aux autres variétés. Les flavonoïdes sont fortement abondants dans toutes les variétés étudiées. Selon Gorinstein *et al.*, Londono-londono *et al.*, Moulehi *et al.* et Ballester *et al.* [5, 11, 20, 21], Les écorces d'agrumes contiennent différents types de flavonoïdes. Les anthocyanes sont identifiés uniquement dans les variétés rouges (Sanguinelli, Double fine et Portugaise). Ce qui explique la pigmentation de leurs chairs et peaux en rouge violacé. Ces résultats corroborent ceux de Bernardi *et al.* [22]. Les coumarines sont révélés dans toutes les variétés étudiées avec une fluorescence sétéirav sel ruop enneyom edaragiB, esiagutroP, enif elbuoD, nosmohT te illeniugnaS, biaf tele notgnihsaW te affaJ ruop. été a ecnesérp rueL rapportée dans plusieurs travaux dont ceux de Dugo *et al.*, Bla te acerra. , Goulas et Manganaris [23-25]. Ces derniers révèlent leur présence

dans les écorces d'agrumes (mandarine, bergamote (*Citrus aurantium* var. Bergamia) et pamplemousse), le chinotto (*Citrus aurantium* var. myrtifolia) et l'orange, respectivement.

Les terpénoïdes sont fortement détectés dans les écorces de toutes les variétés d'oranges testées. Notre résultat est appuyé par ceux de Takita *et al.* [26] et Cheong *et al.* [27, 28]. Ces derniers montrent une richesse des écorces d'oranges et de pamplemousses en terpènes. Les caroténoïdes sont déterminés fortement dans toutes les variétés d'oranges ce qui corrobore avec les résultats d'Alquezar *et al.*, Carmona *et al.*, Goulas et Manganaris [4, 25, 29].

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ashok Kumar *et al.* [9] pour les écorces d'oranges douces et citron. Ces derniers ont révélé la présence des composés phénoliques (tanins et flavonoïdes), des terpénoïdes et des composés réducteurs dans les écorces d'oranges, avec une différence qui est la présence des alcaloïdes et des saponosides. He *et al.* [30] affirment également la présence des alcaloïdes dans les écorces de différents hybrides d'agrumes. Cette présence peut être expliquée par la différence des méthodes et des solvants d'extraction utilisés, par des facteurs génétiques, climatiques et édaphiques de la région de la récolte.

Tableau 1
Résultats du screening phytochimique des écorces d'oranges.

		Washington	Thomson	Sanguinelli	Double fine	Portugaise	Jaffa	Bigarade
Tanins	Totaux	+++	+++	++	+++	++	++	++++
	Galliques	++	+++	++	++	++	++	++++
	Catéchiques	++	++	++	++	++	++	+++
Flavonoïdes	Totaux	++	++	++++	+	+++	++++	++++
	Anthocyanes	Nd	Nd	++	+	Nd	+++	Nd
	Coumarines	+	++	++	++	+	++	++
	Alcaloïdes	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
	Saponosides	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
	Mucilage	+++	+	+	+	+++	++	+++
Sucres	Totaux	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	Composés réducteurs	++	++	+++	+++	++	+	++++
Terpénoïdes	Stérols	+++	+++	++++	+++	+++	++++	++++
	Tri-terpènes	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++
	Caroténoïde	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++

++++ Très abondant ; +++ abondant ; ++ présence modérée ; + présence faible ; Nd : Non détecter, (R+) : Réaction positive.

3.2. Huiles essentielles

3.2.1. Rendement en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles des écorces d'oranges testées sont représentés dans la figure 1. Les rendements varient significativement (* $p \leq 0,05$) en fonction de la variété d'orange.

Les résultats montrent que les meilleurs rendements en huiles essentielles sont enregistrés pour la variété Jaffa (1,48 %) suivie de Washington (1,04 %).

Les teneurs sont à peu près deux fois plus élevées que celles de Bigarade (0,63 %), Sanguinelli (0,63 %),

Portugaise (0,54 %) et Double fine (0,51 %). Les variétés Thomson et Double fine s'avèrent les plus faibles en huiles essentielles. Leurs teneurs sont approximativement trois fois plus faibles que celle de la Jaffa.

Les résultats obtenus dans ce travail sont presque similaires aux résultats de Jeannot *et al.* et Fuselli *et al.* [31, 32]. Ces derniers ont constaté des rendements en huiles essentielles allant de 0,25 à 0,57 % pour les écorces de l'orange amère et 0,6 à 0,8 % pour les écorces des oranges douces.

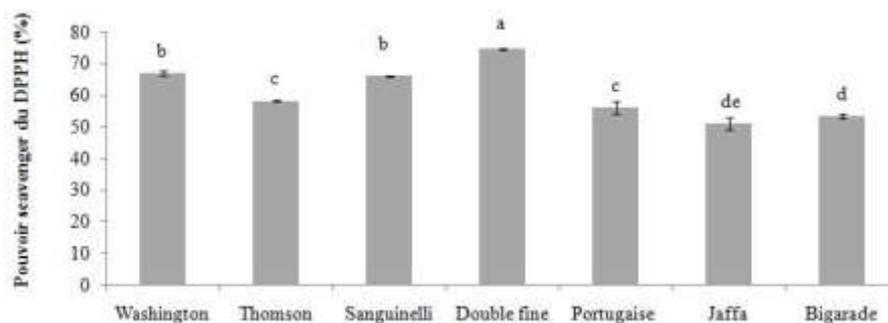


Figure 1 : Représentation graphique des rendements en HE_s des écorces d'oranges.
Les valeurs portant la même lettre ne montrent pas de différence significative ($P > 0.05$).
Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c > d > e$.

3.2.2. Analyse chromatographique des huiles essentielles par CPG/SM

L'analyse spectrale des huiles essentielles des écorces de Double fine a permis d'identifier 10 composants (Tableau 2). Plusieurs investigations de Saidani et Brahim [12], Hosni *et al.* [33], Njoroge *et al.* [34], ont démontré que généralement les huiles essentielles des écorces d'agrumes sont constituées principalement des composés mono-terpéniques (97 %). Alors que les autres composés ne sont présent qu'avec des faibles teneurs ce qui affirme notre résultat. Il est à signaler également l'absence totale des fractions oxygénées. Notre résultat montre que les principaux composés chimiques des huiles essentielles des écorces de Double fine sont le limonène (89,81 %), β -pinène (4,15 %), α -pinène (1,37 %) et Eremophilene (1,76 %).

Tableau 2

Principaux composés chimiques (%) des HE_s des écorces de Double fine, analysées par CPG-MS et leurs temps de rétention.

Composants	Temps de rétention (min)	Abondance (%)
α-pinène	8,928	1,375
B-phellandrene	10,351	0,518
B- pinène	11,054	4,150
α - terpinène	11,906	0,899
Limonène	12,569	89,811
δ - terpinène	13,180	0,377
Terpinolene	13,946	0,189
NI	14,020	0,568
Caryophyllene	22,479	0,201
Eremophilene	24,125	1,765
Cadinene	24,748	0,147

NI : Non identifié

3.3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode du DPPH. La figure 2 montre les valeurs moyennes du pouvoir scavenger du DPPH des huiles essentielles des écorces des variétés d'oranges testées. Les résultats montrent que la capacité antioxydante de ces huiles essentielles varie significativement ($*p \leq 0,05$) en fonction du cultivar. Les valeurs varient de 50,94 % à 74,47 %.

Le pouvoir scavenger du DPPH des huiles essentielles varie significativement ($*p \leq 0,05$) en fonction de la variété, excepté pour les variétés (Washington et Sanguinelli) et (Thomson et Portugaise) qui sont statistiquement similaires ($p > 0,05$). Les huiles essentielles de Double fine présentent le meilleur pouvoir scavenger (74,47 %) suivie de Sanguinelli (66,02 %) et de Washington (66,78). Les activités antiradicalaires les plus faibles ont été notées pour les variétés Bigarade (53,19 %) et Jaffa (50,95 %). Frassinetti *et al.* [35] rapportent que les huiles essentielles des écorces d'oranges, citrons et mandarines possèdent des activités antiradicalaires variant de 20 à 70 %. La capacité antioxydante la plus importante a été notée pour les huiles essentielles de l'écorce du citron (70 % d'inhibition). Ce résultat n'est pas loin des valeurs obtenues pour nos échantillons (51 à 75 %).

L'activité antioxydante des huiles essentielles des écorces est exprimée en CE₅₀. Cette valeur est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante. Ces CE₅₀ sont déterminées graphiquement dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. Les CE₅₀ calculées sont rapportées dans le tableau 3. Une faible CE₅₀ correspond à un fort pouvoir scavenger. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa CE₅₀ est petite [19, 36].

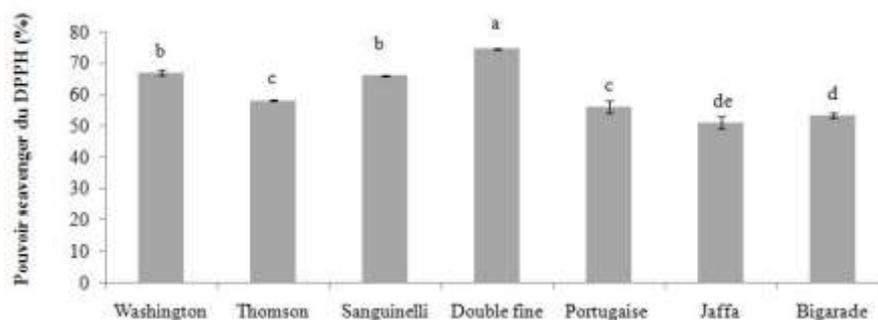


Figure 2 : Représentation graphique du pouvoir scavenger du DPPH des HE_s des écorces d'oranges.

Les valeurs portant la même lettre ne montrent pas de différence significative ($P > 0,05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d > e$.

Les valeurs du tableau 3 montrent que les CE₅₀ des huiles essentielles des écorces de Double fine sont les plus faibles suivies de celles de Sanguinelli et Washington. Les huiles essentielles de Jaffa et de Bigarade montrent les valeurs de CE₅₀ les plus élevées. Ceci confirme les résultats obtenus précédemment.

Tableau 3

CE₅₀ du pouvoir scavenger du radical DPPH des HE_s des écorces d'oranges

Échantillon	CE ₅₀ (rapport de dilution des HE _s)
Washington Navel	0,017 ± 0,0002 ^B
Thomson Navel	0,019 ± 0,0009 ^C
Sanguinelli	0,017 ± 0,0005 ^B
Double fine	0,015 ± 0,0008 ^A
Portugaise	0,020 ± 0,0005 ^{CD}
Jaffa	0,022 ± 0,0003 ^E
Bigarade	0,021 ± 0,0014 ^{CDE}

CE₅₀: Concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité de DPPH•. Chaque valeur dans le tableau est la moyenne des essais ± écart type ($n = 3$). Les valeurs portant des lettres différentes sont significativement différents ($P < 0,05$). Les résultats sont classés par ordre croissant : A B C D E.

4. Conclusion

Le screening phytochimique a révélé la présence des composés phénoliques (tanins, flavonoïdes et coumarines), des terpénoïdes (stérols, tri-terpènes et caroténoïdes), des sucres (oses, holosides et sucres réducteurs), des mucilages et des anthracéniques C-hétérosides dans toutes les écorces étudiées. La variété Bigarade s'avère la plus riche en ces composés. Les anthocyanes ont été identifiés uniquement dans les écorces des variétés pigmentées.

Les meilleurs rendements en huiles essentielles ont été noté pour la variété Jaffa (1,48 % MF). Les plus faibles rendements ont été enregistrés pour la variété Thomson (0,39 % MF).

Il ressort également que les huiles essentielles de la variété Double fine présentent l'activité antioxydante la plus prononcée. L'analyse chromatographique des huiles essentielles de la Double fine par GC-MS a permis d'identifier 10 composants avec le limonène comme constituant majoritaire suivi de β-pinène, α-pinène et d'ermophilène.

Références

- [1] FAO: Food and Agriculture Organization. Statistical Databasesm (2012). (www.FAO.org Accessed 19.07.13).
- [2] Y. C. Wang, Y. C. Chuang, Y. H. Ku. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan, *Food Chem.*, 102 (2007) 1163-1171.
- [3] Jawad A. and Langrish T. A. G., Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction, *J. Food Eng.*, 109 (2012) 162-174.
- [4] Carmona L., Zacarias L., Rodrigo M. J., Stimulation of coloration and carotenoid biosynthesis during postharvest storage of 'Navelina' orange fruit at 12 °C, *Postharvest Biol. Tec.*, 74 (2012) 108-117.
- [5] Gorinstein S., Martin-Belloso O., Parck Y. S., Haruenkit R., Logek A., Ciz M., Libman I., Traktenberg S., Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits, *Food Chem.*, 74 (3) (2001) 309-315.
- [6] Li B. B., Smith B., Hossain M. D. M., Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method, *Sep. Purif. Technol.*, 48 (2006) 182-188.
- [7] Bocco M. E., Cuvelier Richard H., Berset C., Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 46 (1998) 2123-2129.
- [8] Wang Y. C., Chuang Y. C., Hsu H. W., The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan, *Food Chem.* 106 (2008) 277-284.
- [9] Ashok kumar K., Narayani M., Subanthini A., Jayakumar M., Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Citrus Fruit Peels -Utilization of Fruit Waste, *Inter. J. Eng. Sci. Technol.*, 3 (2011) 5417-5421.
- [10] Huang Y. S., Ho S. C., Polymethoxy flavones are responsible for the anti-inflammatory activity of citrus fruit peel, *Food Chem.*, 119 (2010) 868-873.
- [11] Moulehi S., Bourgou I., Ourghemmi T., Saidani M., Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts, *Ind. Crops Prod.*, 39 (2012) 74-80.
- [12] Hosni K., Zahed N., Chrif R., Abid I., Medfei W., Kallel M., Ben Brahim N., Sebei H., Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence, *Food Chem.*, 123 (2010) 1098-1104.
- [13] N'guessan K., Kadja B., Zirih G. N., Traoré D., Aké-Assi L., Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Int. Sci. Nat.*, 6 (1) (2009) 1 - 15.
- [14] Rizk A. M., Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*. 52 (2) (1982) 35-42.
- [15] Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi-Hassani L. Badoc M., Gmira A., Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-Macoraïne, *Thymelafa Lythroides*, *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142 (2003) 61-78.
- [16] Randerath K., *Chromatographie sur couche minces*, Ed. Gauthier-Villars, Paris. 1971. 337-339 p.
- [17] Badiaga M., « *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au mali* ». Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali, 2011.
- [18] Nsambu M., Muhigwa B., Rubabura K., Bagalwa M., Bashwiram S., Evaluation in vitro activity of insect alkaloid, saponins, terpenoids or steroids extracts *Capiscum frutescens* L. (Solanaceae) against *Antestiopsis orbitalisghesquierei*, pests of coffee trees, *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 8 (2014) 1231-1243.
- [19] Sanchez-Moreno A., Larrauri-Jose F., Saura-Calixto A., Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols, *J. Sci. Food Agric.*, 76 (2) (1998) 270-276.
- [20] Londoño-Londoño J., Lima V. R., Lara O., Crecsynski Pasa T. B., Arango J., Gil A., Ramirez Pineda J. R., Clean recovery of antioxidant flavonoids from citrus peel: Optimizing an aqueous ultrasound-assisted extraction method, *Food Chem.*, 119 (2010) 81-87.
- [21] Ballester A. R., Lafuente M. T., Vos R. C. H., Bovy A. G., González-Candelas L., Citrus phenylpropanoids and defence against pathogens. Part I: Metabolic profiling in elicited fruits, *Food Chem.*, 136 (2013) 178-185.
- [22] Bernardi J., Licciardello C., Russo M. P., Chiusano M. L., Carletti G., Recupero G. R., Marocco A., Use of a custom array to study differentially expressed genes during blood orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) ripening, *J. Plant Physiol.*, 167 (2010) 301-310.
- [23] Dugo P., Mondello L., Dugo L., Stancanelli R., Dugo G., LC-MS for the identification of oxygen heterocyclic compounds in citrus essential oils, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 24 (2000) 147-154.
- [24] Barreca E., Bellocco C., Caristi Leuzzi U., Gattuso G. Elucidation of the flavonoid and furocoumarin composition and radical-scavenging activity of green and ripe chinotto (*Citrus myrtifolia* Raf.) fruit tissues, leaves and seeds, *Food Chem.*, 129 (2011) 1504-1512.
- [25] Goulas V., Manganaris G. A., Exploring the phytochemical content and antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus, *Food Chem.*, 131 (2012) 39-47.
- [26] Takita M. A., Berger I. J., Basilio-Palmieri A. C., Borges K. M., Souza J. M., Targon M. L. N. P., Terpene production in the peel of sweet orange fruits, *Genet. Mol. Biol.*, 30 (2007) 841-847.
- [27] Cheong M. W., Chong Z. S., Liu S. Q., Zhou W. B., Curran P., Yu B., Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*) Part I: volatiles, aromatic profile and phenolics acids in the peel, *Food Chem.*, 134 (2012a) 686-695.
- [28] Cheong M. W., Loke X. Q., Liu S. Q., Pramudya K., Curran P., Yu B., Characterization of Volatile Compounds and Aroma Profiles of Malaysian Pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) Blossom and Peel, *J. Essent. Oil Res.*, 23 (2012b) 34-44.
- [29] Alquezar B., Rodrigo M. J., Zacarias L., Regulation of carotenoid biosynthesis during fruit maturation in the red-fleshed orange mutant Cara, *Phytochem.*, 69 (2008) 1997-2007.
- [30] He D., Shan Y., Wu Y., Liu G., Chen B., Yao S., Simultaneous determination of flavanones, hydroxycinnamic acids and alkaloids in citrus fruits by HPLC-DAD-ESI/MS., *Food Chem.*, 127 (2011) 880-885.
- [31] Jeannot V., Chahboun J., Russel D., Baret P., Quantification and determination of chemical composition of essential oils extracted from natural orange blossom water (*Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium*), *Int. J. Aromather.*, 15 (2) (2005) 94-97.
- [32] Fuselli S. R., Garcia De la Rosa S. B., Euguarus M. J., Fritz R., Chemical composition and antimicrobial activity of citrus essence on Honebee bacterial pathogen *Pacnibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood., *Word J. Microbial. Biotechnol.*, 24 (2008) 2067-2072.
- [33] Saïdani M., Brahim M., Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange., *Phytochem.*, 62 (2003) 1283-1289.
- [34] Njoroge S. M., Phi N. T. L., Sawamura M., Chemical Composition of Peel Essential Oils of Sweet Oranges (*Citrus sinensis*) from Uganda and Rwanda., *J. Essent. Oil. Bear. Pl.*, 12 (2009) 26-33.
- [35] Frassinetti S., Caltavuturo L., Cini M., Della Croce C. M., Maserti B. E., Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oils from Citrus spp., *J. Essent. Oil Res.*, 23 (2011) 27-31.
- [36] Scherer R., Godoy H. T., Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method, *Food Chem.*, 112 (2009) 654-658.