



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de
la Terre et de l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire « Produits Naturels »(LAPRONA)

*Laboratoire « Antibiotiques et Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et
Activité biologique »*

MEMOIRE

En vue de l'obtention du **Diplôme de MASTER** en
BIOLOGIE

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

M^{lle} BELGHORZI Dounya Affef

M^r KHELIFA Walid

THEME

**Contribution à l'étude des rendements et des activités biologiques
de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (Bigaradier)
récolté dans la région de Tlemcen**

Soutenu, le ..09/2022, devant le jury composé de :

President :

M^{elle} BENARIBA N.

Maître de Conférences « A »

Université de Tlemcen

Examineur :

M^{me} KHOLKHAL W.

Maître de Conférences « B »

Université de Tlemcen

Encadreur :

M^{me} BEKHECHI C.

Professeur

Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions « Allah », de nous avoir accordé le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous exprimons notre plus grande reconnaissance à nos parents qui ont pu nous transmettre des valeurs éducatives et familiales dénuées de tous jugement et qui font ce que nous sommes devenu aujourd'hui.

Nous exprimons nos sincères remerciements, du fond du cœur à notre encadreur **M^{me} BEKHECHI Chahrazed**, Professeur à l'université de Tlemcen, pour son soutien, ses conseils, sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et ses intérêts portés pour notre thème de recherche.

Un grand merci s'adresse à notre responsable de spécialité, **M^{lle} BENARIBA Nabila**, Maître de Conférences « A », à l'Université de Tlemcen, d'avoir acceptée de présider ce jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à **M^{me} KHOLKHAL Wahiba**, Maître de Conférences « B », à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous apporte en acceptant d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier également **M^r MALTI Charaf Eddine Watheq**, Maître assistant à l'université de Relizane pour son aide, ses conseils et sa disponibilité au laboratoire durant tout le long de ce travail.

Enfin, Nous ne manquons pas non plus de remercier tous nos amis et parents qui nous ont aidés, que ce soit de près ou de loin.

Merci à toutes et à tous

Dédicaces

*On dédie ce modeste travail particulièrement à nos très **chers parents**, qui ont consacré leur existence à bâtir la mienne, pour leur soutien, patience et soucis de tendresse et d'affection pour tout ce qu'ils ont fait pour qu'on puisse arriver à ce stade, nos chers vous étiez notre source d'inspiration dans notre vie.*

A nos mères qui nous ont encouragées durant toute notre étude, et qui sans eux, notre réussite n'aura pas eu lieu.

Quelle trouve ici notre amour et notre affection.

A nos pères, qui sont toujours disponible pour nous et prêt à nous aider, on leur confirme notre attachement et notre profond respect.

*A notre grand-mère **Halima**, la source d'espoir de vie et de motivation.*

A tous nos familles.

*A mes chères frères **Djawed et Yahia**, mes sœurs **Djihane, Rawane et Jana**, votre Affef vous dites que vous êtes la source de joie et de bonheur que j'adore et je vous souhaite la réussite dans votre vie*

*A mon frère **Belhadj**, ton Walid te dis, tu es **le** bonheur que j'adore et je te souhaite la réussite dans ta vie.*

*A tous nos amis, particulièrement à **Chaimaa** chère amie, tu es une étoile brillante.*

Affef et Walid

Résumé

Les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisés par les plantes aromatiques. Elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires, anti-infectieuses, antioxydantes....

Le présent travail est consacré à l'extraction des huiles essentielles, d'une part pour déterminer les rendements en HE de plusieurs échantillons de *Citrus aurantium* provenant de deux stations de la région de Tlemcen : Maghnia et El Fehoul et d'autre part d'évaluer les activités biologiques, notamment les activités antifongique et antioxydante.

Nous avons prélevé 24 échantillons sur des pieds individuels, soit 12 échantillons par station d'étude. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par simple hydrodistillation et par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. L'épicarpe des fruits de cette espèce végétale est riche en huile essentielle. Les rendements sont très variables, allant de 0,34 à 2,0%. Cependant, la moyenne des rendements dans la station de Maghnia (0,72%) est moins importante en comparaison avec celle de la station d'El Fehoul (0,82%).

La deuxième partie a été consacrée à l'étude des activités antioxydante et antifongique des huiles essentielles. Pour cela, nous avons regroupé l'huile essentielle des différents échantillons de la même station pour avoir suffisamment d'huile essentielle et pouvoir effectuer les activités biologiques. Ainsi, nous avons constitué quatre échantillons «communelle» : E1, E2, E3 et E4. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la méthode de la réduction du radical DPPH. L'échantillon E1 s'est montré le plus actif, avec une CI_{50} de l'ordre de $20,99 \pm 2,12$ mg/ml. En revanche, l'échantillon E4 présente un faible pouvoir antioxydant avec une CI_{50} de l'ordre de $265,61 \pm 41,60$ mg/ml. Cependant, tous les échantillons se sont avérés nettement moins actifs par rapport au composé de référence à savoir, l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,02 \pm 0,001$ mg/ml). Enfin, le pouvoir antifongique de trois échantillons (E1, E2 et E3) a été évalué par 2 méthodes : méthode de diffusion sur disque et la méthode de contact direct, vis-à-vis de 3 souches filamenteuses : *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* et *Fusarium oxysporum*. *Aspergillus flavus* s'est montré le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon E1 avec une CMI élevée de l'ordre de 6 µl/ml. Cependant, cette sensibilité reste très faible.

Mots clés : Orange amère, *Citrus aurantium*, huile essentielle, hydrodistillation, activité antioxydante, DPPH, CI_{50} , pouvoir antifongique, Aromatogramme, CMI.

Abstract

Essential oils are natural complexes of volatile and fragrant molecules, synthesized by aromatic plants. They have anti-inflammatory, anti-infectious, antioxidant properties....

The present work is devoted to the extraction of essential oils, on the one hand to determine the yields in HE of several samples of *Citrus aurantium* coming from two stations of the area of Tlemcen: Maghnia and El Fehoul and on the other hand to evaluate biological activities, including antifungal and antioxidant activities.

We took 24 samples from individual trees, i.e. 12 samples per study station. The extraction of essential oils was carried out by simple hydrodistillation and by hydrodistillation with a Clevenger type apparatus. The epicarp of the fruits of this plant species is rich in essential oil. Yields are highly variable, ranging from 0.34 to 2.0%. However, the average yield in the Maghnia station (0.72%) is lower in comparison with that of the El Fehoul station (0.82%).

The second part was devoted to the study of antioxidant and antifungal activities of essential oils. For this, we grouped the essential oil of the different samples from the same station to have enough essential oil and to be able to carry out the biological activities. Thus, we have constituted four "common" samples: E1, E2, E3 and E4. The antioxidant power was evaluated by the DPPH radical reduction method. The E1 sample was the most active, with an IC_{50} of the order of 20.99 ± 2.12 mg/ml. On the other hand, the E4 sample has a low antioxidant power with an IC_{50} of the order of 265.61 ± 41.60 mg/ml. However, all samples were found to be significantly less active compared to the reference compound, namely ascorbic acid ($IC_{50} = 0.02 \pm 0.001$ mg/ml). Finally, the antifungal power of three samples (E1, E2 and E3) was evaluated by 2 methods: disc diffusion method and the direct contact method, against 3 filamentous fungi: *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* and *Fusarium oxysporum*. *Aspergillus flavus* was the most sensitive to the essential oil of the E1 sample with a high MIC of the order of 6 μ l/ml. However, this sensitivity remains very low.

Keywords: Bitter orange, *Citrus aurantium*, essential oil, hydrodistillation, antioxidant activity, DPPH, CI_{50} , antifungal power, Aromatogram, MIC

الملخص

الزيوت العطرية عبارة عن معقدات طبيعية من جزيئات متطايرة و عطرية، يتم تصنيعها بواسطة نباتات عطرية. لها خصائص مضادة للالتهابات، و مضادة للعدوى، ومضادة للأكسدة....

هذا العمل مخصص لاستخراج الزيوت العطرية ، من جهة لتحديد مردود عدة عينات من *Citrus aurantium* من محطتين في منطقة تلمسان: مغنية والفحول ومن جهة أخرى لتقييم الأنشطة البيولوجية ، بما في ذلك مضادات الفطريات ومضادات الأكسدة.

في الجزء الأول أخذنا 24 عينة من أشجار فردية، أي 12 عينة لكل محطة دراسة. تم استخلاص الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي البسيط والتقطير المائي بجهاز من نوع Clevenger. قشرة ثمار هذا النوع من النباتات غني بالزيت العطري. المرودية متغيرة بدرجة كبيرة ، وتتراوح من 0.34 إلى 2.0٪. لكن متوسط المرودية في محطة مغنية (0.72٪) أقل مقارنة بمحطة الفحول (0.82٪).

خصص الجزء الثاني لدراسة الأنشطة البيولوجية المضادة للأكسدة والفطريات للزيوت الأساسية. لهذا، قمنا بتجميع الزيت العطري للعينات المختلفة من نفس المحطة للحصول على زيت أساسي كافٍ ولتتمكن من تنفيذ الأنشطة البيولوجية. وبالتالي، فقد شكلنا أربع عينات "مشتركة": E1 و E2 و E3 و E4. تم تقييم قوة مضادات الأكسدة من خلال طريقة التثبيط الجذري DPPH. كانت عينة E1 هي الأكثر نشاطاً، حيث كان IC_{50} بترتيب 20.99 ± 2.12 ملغ/مل. من ناحية أخرى، تحتوي عينة E4 على قوة منخفضة من مضادات الأكسدة مع IC_{50} بترتيب 265.61 ± 41.60 ملغ/مل. ومع ذلك، وجد أن جميع العينات كانت أقل نشاطاً بشكل ملحوظ مقارنة بالمركب المرجعي، و هو حمض الأسكوربيك (IC_{50} : 0.001 ± 0.02 ملغ/مل. أخيراً، تم تقييم القوة المضادة للفطريات لثلاث عينات: (E1 و E2 و E3) بطريقتين طريقة الانتشار القرصي وطريقة الاتصال المباشر، ضد 3 سلالات فطرية:

Aspergillus fumigatus و *A. Flavus* و *Fusarium oxysporum*. ثبت أن *Aspergillus flavus* هو الأكثر حساسية للزيت العطري للعينة E1 بنسبة عالية بقطر قيم التركيز الأدنى للتثبيط (CMI) تصل إلى 6 ميكرو لتر/مل. ومع ذلك ، تظل هذه الحساسية منخفضة للغاية.

الكلمات المفتاحية: البرتقال المر، *Citrus aurantium* ، الزيت الأساسي، التقطير المائي، نشاط مضادات الأكسدة، DPPH، IC_{50} ، القوة المضادة للفطريات، الرسم العطري، CMI.

Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

الملخص

Tables des matières

Tables des illustrations

Introduction1

Première partie : Synthèse Bibliographique4

Chapitre I : Généralités sur les agrumes5

1. Historique5

2. Généralités sur les agrumes5

1.2. Systématique des agrumes5

2.2. Origine et première cultures6

2.3. Morphologie6

2.4. Caractéristiques des agrumes7

2.4.1. Les fleurs8

2.4.2. Les fruits8

2.4.3. Les racines9

2.4.4. Les feuilles et les rameaux9

3. La production des agrumes10

3.1. Dans le monde10

3.2. En Algérie13

Chapitre II : Généralités sur l'espèce *Citrus aurantium*14

1. Description de la famille des Rutacées15

2. Description du genre *Citrus*15

3. *Citrus aurantium*16

3.1. Introduction16

3.2. Description botanique de *Citrus aurantium*16

3.2.1. Le fruit17

3.2.2. La feuille18

3.3. Systématique de l'espèce *Citrus aurantium*19

3.4. Distribution géographique	19
3.5. Les différents usages de <i>Citrus aurantium</i>	20
3.5.1. Les usages traditionnelles	20
3.5.2. Les usages pharmaceutiques	21
3.5.2.1. Les préparations officinales.....	21
3.5.2.2. L'allopathie.....	22
3.5.3. Les usages cosmétiques	22
3.6. Les travaux antérieurs	22
3.6.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citrus aurantium</i>	22
3.6.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Citrus aurantium</i>	36
3.6.2.1. Activité antioxydante.....	36
3.6.2.2. Activité antimicrobienne	37
3.6.2.3. Autres activités.....	40
Chapitre III : Généralités sur les huiles essentielles.....	41
1. Définition	41
2. Propriétés des huiles essentielles	41
3. Localisation des huiles essentielles.....	42
4. Fonction des huiles essentielles	43
5. Composition chimique	44
5.1. Terpénoïdes.....	44
5.2. Phénylpropanoïdes	44
Deuxième partie : Partie expérimentale	45
1. Matériel végétal	46
2. Situation géographique et période de récolte des plantes	46
3. Extraction des huiles essentielles.....	46
4. Calcul des rendements en huile essentielle	48
5. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i>	48
5.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i>	48
5.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)	49
5.2. Activité antifongique de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i>	50
5.2.1. Provenance des germes	50
5.2.1. Mise en culture des souches	50
5.2.3. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	51
5.2.3.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur	

disque (Aromatogramme)	51
5.2.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé	52
Troisième Partie : Résultats et discussion	53
1. Rendement en huile essentielle des différents échantillons	54
2. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i>	56
2.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i>	56
2.2. Activité antifongique de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i>	60
2.2.1. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque	60
2.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé	61
Conclusion	63
Références Bibliographiques.....	66
Annexe	76

Tables des illustrations

Liste des photos

Photo	Titre	Page
Photo 1	Vue d'ensemble d'un arbre de bigaradier (orange amère) (Maghnia, 15/02/2022)	17
Photo 2	Fruit du bigaradier (15/02/2022)	17
Photo 3	Zestes de l'orange amère	47
Photo 4	Dispositif d'extraction par hydrodistillation avec un appareil de type de Clevenger	47
Photo 5	Dispositif d'extraction par simple hydrodistillation	47
Photo 6	Huile essentielle obtenue par hydrodistillation (simple et avec un appareil de type Clevenger, respectivement)	47
Photo 7	Résistance de <i>Fusarium oxysporum</i> à l'échantillon E1 de l'huile essentielle de <i>C. aurantium</i> à la concentration de 6 µl/ml	62
Photo 8	Sensibilité d' <i>Aspergillus flavus</i> à l'échantillon E1 de l'huile essentielle de <i>C. aurantium</i> à la concentration de 6 µl/ml	62

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Coupe transversale d'une orange	7
Figure 2	Les différents types des fruits des agrumes	8
Figure 3	Les différents types de feuilles des agrumes	9
Figure 4	Répartition géographique de la production mondiale d'agrumes	10
Figure 5	Morphologie de <i>Citrus aurantium</i>	16
Figure 6	La feuille du bigaradier	18
Figure 7	Les principaux pays producteurs de l'orange amère et douce	20
Figure 8	Structure de quelques composés majoritaires rencontrés dans l'HE de <i>Citrus aurantium</i>	23
Figure 9	Situation géographique des lieux de prélèvement de <i>C. aurantium</i> dans la région de Tlemcen	46
Figure 10	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	49
Figure 11	Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> récolté dans la station de Maghnia	54
Figure 12	Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> récolté dans la station d'El Fehoul	54
Figure 13	Comparaison des rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> récolté dans les deux stations d'étude	55
Figure 14	Moyenne des rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> récolté dans les deux stations d'étude	55
Figure 15	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> (E1)	57
Figure 16	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> (E2)	57
Figure 17	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> (E3)	58
Figure 18	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> (E4)	58

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Production totale des agrumes dans le monde	11
Tableau 2	La production et la superficie totale d'agrumes en Algérie	13
Tableau 3	Les principaux <i>Citrus</i> cultivés en méditerranée	15
Tableau 4	Description de <i>Citrus aurantium</i>	18
Tableau 5	Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de <i>C. aurantium</i> collecté en Afrique du nord, en Iran et en Italie	24
Tableau 6	Activité antimicrobienne selon la littérature	38
Tableau 7	Origines des souches fongiques utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	50
Tableau 8	Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle du zeste de <i>C. aurantium</i> des quatre échantillons exprimée en CI ₅₀	59
Tableau 9	Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (E1, E2 et E3) de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> relatives aux souches fongiques selon la méthode de disque	60
Tableau 10	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus aurantium</i> relatives aux souches fongiques testés	61

Abréviations

HE : Huile essentielle.

JC : Avant Jésus-Christ

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

AFNOR/ISO : Association Française de la Normalisation/ International Organization for Standardization

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

ERN : Espèces Réactives de l'Azote

CMI : Concentration minimale inhibitrice

UV : Ultra-violet

CI₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50%

Introduction

Introduction

L'Algérie détient une collection variétale composée de 256 variétés d'agrumes, ce qui représente un patrimoine génétique inestimable. D'après **Larbi en 2009**, parmi ces agrumes se trouve l'orange amère (bigaradier), qui possède de nombreuses propriétés et utilisations dans différents domaines. Depuis des milliers d'années, l'oranger amer est utilisé comme un aliment et comme une plante médicinale. Le bigaradier appartient à la famille de Rutacées, vit dans des régions tropicales d'Asie. Cet arbre est cultivé dans toutes les zones tropicales et subtropicales. Le bigaradier (*Citrus aurantium*) est l'une des espèces des agrumes qui sont considérés comme les fruits les plus importants dans le monde ; ces fruits sont consommés généralement crus ou sous forme de jus.

La consommation des agrumes est associée à la réduction de l'apparition de plusieurs maladies. Les effets bénéfiques de ces fruits sont souvent attribués à la présence des composés bioactifs (la vitamine C, les composés phénoliques,...) qui préviennent l'oxydation des molécules biologiques, par inhibition des radicaux libres (**Abeyinghe et al., 2007**). En ce moment, le monde recourt à la recherche des plantes naturelles à utiliser dans divers domaines pour bénéficier de leurs bienfaits médicaux. Nous avons constaté, selon la littérature que l'orange amère présente de nombreux avantages car il a été utilisé dans de nombreux domaines tels que la médecine, l'alimentation, la cosmétique, etc.

Ainsi, cette étude consiste à apporter notre modeste contribution pour la valorisation d'une espèce végétale appartenant à la famille des Rutacées, à savoir : *Citrus aurantium* (Bigaradier) récolté dans deux stations (Maghnia et El Fehoul) de la région de Tlemcen. L'objectif de ce travail est d'une part, de déterminer les rendements en huile essentielle de plusieurs échantillons prélevés à partir de pieds individuels et d'autre part, d'évaluer les activités biologiques : antioxydante et antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* L.

Ce mémoire est subdivisé en trois parties :

La première partie concerne la synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres. Le premier chapitre englobe des généralités sur les agrumes. Le deuxième chapitre regroupe la description botanique de l'espèce *Citrus aurantium* L., les propriétés thérapeutiques et les travaux antérieurs sur les huiles essentielles de cette plante. Dans le troisième chapitre, nous avons présenté les huiles essentielles en apportant des informations sur leurs : propriétés, localisation, fonction et composition chimique.

La deuxième partie concerne les données expérimentales dont laquelle, nous détaillons la cueillette du matériel végétal, l'extraction des huiles essentielles du zeste des bigarades.

Introduction

Ensuite, nous décrivons les méthodes utilisées pour l'évaluation des activités biologiques : antioxydante et antifongique.

Dans la troisième et dernière partie, nous rapportons les résultats obtenus qui vont être interprétés et discutés par rapport aux données de la littérature sur cette plante.

Enfin, ce mémoire s'achève par une conclusion et quelques perspectives.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les agrumes

1. Historique

L'histoire des agrumes est vieille de plusieurs millénaires et a croisé le destin des plus grandes civilisations, à toutes les époques. Il semble presque certain que toutes les espèces sont originaires des régions subtropicales et tropicales de l'Asie, en particulier de Chine et de l'Archipel Malais. Il semblerait que le cédrat était connu en Égypte et en Mésopotamie 4 000 ans avant J-C., mais c'est de Chine que parviennent les témoignages écrits, les plus anciens remontant à 2 200 avant J-C. (décrit les kumquats et les pomelos). Un autre témoignage plus récent, un texte chinois de 1 178 avant J-C. décrit 27 variétés de bigaradiers, d'orangers et de mandariniers. Au cours des siècles, d'autres types d'agrumes furent décrits dans la littérature chinoise. Il a été retrouvé également des témoignages écrits au Japon sur la culture et l'utilisation des agrumes remontant à la période Nara (710-794 après J-C.). Des témoignages sur les citrons proviennent d'Indochine et de Malaisie, tandis que des descriptions de cédrats et de citrons remontant à 800 ans avant J-C. sont parvenues d'Inde (**Colombo, 2004**).

Les agrumes ont été disséminés au cours des siècles dans différentes régions du monde. Leur apparition dans le bassin méditerranéen est très ancienne et remonte aux échanges entre l'Orient et l'Occident occasionnés par les négoce qui ont accompagné la route de la soie bien avant l'ère chrétienne. Ultérieurement, les contacts établis par les navigateurs de XV^e siècle ont conduit à amplifier la dissémination de ces arbres qui ont souvent été, ensuite, redistribués vers les zones tropicales d'Afrique et d'Amérique, à partir de l'Europe (**Aubert et Vullin, 1997**).

2. Généralités sur les agrumes

Praloran (1971) a souligné que les agrumes font parti de la famille des Rutacées, originaire de Chine, d'Inde et d'Indonésie, et que la période de floraison s'étend de mars à juillet. La couleur des fleurs est blanche. La hauteur de l'arbre est de 500 cm, le type de végétation est vivace et le type de feuillage est à feuilles persistantes. Quant au mode de propagation, il s'agit du semis tiède, du greffage fractionné sur citronnier ou tilleul en août et septembre, et du greffage en bouclier en mai et août. Généralement, des branches de 2 ans peuvent être greffées. La taille est à l'intérieur, en coupant les extrémités des branches pour limiter le développement.

2.1. Systématique des agrumes

Selon **Adjdir et Bensnoussi (2009)**, la classification des agrumes est comme suit :

Embranchement : Angiospermes

Synthèse bibliographique

Classe : Eudicots

Ordre : Géniales (Rutales)

Famille : Rutaceae

Sous-famille : Aurantioideae

Tribu : Citreae

Genre : *Citrus*

Praloran en **1971** a souligné que la classification systématique des agrumes et des genres voisins est un problème que les spécialistes s'accordent à qualifier de complexe. Des divergences se manifestent entre les opinions de Swingle, Tanaka, Hume, Hodgson et Chapot en matière.

2.2. Origine et première cultures

Malgré quelques incertitudes, on pense que les agrumes sont originaires du Sud-Est asiatique, des contreforts de l'Himalaya. Nous sommes, à cet endroit du monde, entre le 15^e et le 20^e parallèle, en pleine zone intertropicale où la chaleur est constante (20 à 25 °C) et l'humidité très forte. On trouve une première mention de leur culture dans les livres religieux indiens et chinois, entre 800 et 500 avant J-C. La Chine constitue par la suite le véritable berceau de la plupart des agrumes (**Bachés et Bachés, 2002**).

- En Europe : Les premiers agrumes connus et cultivés furent les cédrats, connus par les Grecs sous le nom de « Pomme de Médie », Kumquat en pot, c'est-à-dire de Perse, où ils sont arrivés par les routes de la soie et des épices. Les Grecs puis les Romains l'adoptèrent mais sa diffusion dans le bassin méditerranéen fut grandement le fait de la communauté juive, qui l'utilise à l'occasion de la fête des cabanes. Les citrons et les bigarades (oranges amères) furent vraisemblablement introduits par les Arabes, qui les répandirent à partir du VIII^{ème} siècle jusqu'en Afrique du Nord et en Espagne, d'où ils gagnèrent tout le pourtour méditerranéen. L'orange douce n'apparaît en Europe qu'au XV^{ème} siècle, importée de Chine par les Portugais. Les mandarines, dont l'importance est énorme en Asie du Sud-Est, n'arrivèrent en Occident qu'au cours du XIX^{ème} siècle (**Bachés et Bachés, 2002**).

2.3. Morphologie

Les agrumes présentent la même structure anatomique (**Figure 1**) qui comprend trois parties :

- **Épicarpe ou flavédo** : Est la partie la plus externe de l'écorce, colorée en jaune orangé ou en rouge. Elle comprend de nombreuses poches sécrétrices schizolysigènes contenant l'huile

Synthèse bibliographique

essentielles (Tenscher *et al.*, 2005).

- **Mésocarpe ou albédo** : Est la couche intérieure blanche et spongieuse et riche en pectines (Bouroukaa, 2012), la combinaison flavédo et albédo est appelée péricarpe, communément connu sous le nom d'écorce ou peau (Salunkhe *et al.*, 1995).

- **Endocarpe ou pulpe** : C'est la partie comestible du fruit, il est composé de segments, recouverts par une membrane mince, distribués autour d'un axe central ayant la même composition que l'albédo. Les segments sont composés de vésicules de jus recouvertes par les membranes plus fines et contiennent les cellules de jus. Pendant que le fruit munit, le jus s'accumule dans les vacuoles et occupe la majeure partie du volume des cellules mures (Kimball, 1999).

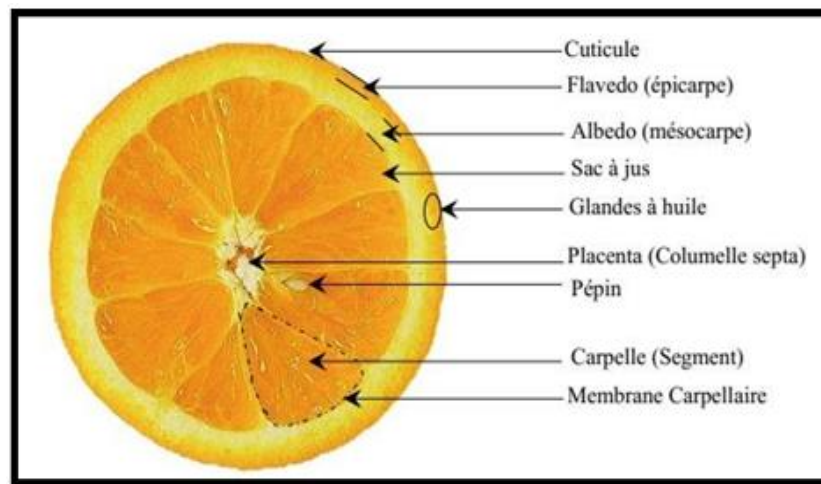


Figure 1 : Coupe transversale d'une orange (Hendrix *et al.*, 1995)

On ne connaît pas d'autres fruits ayant cette structure. Toutes les parties de l'arbre contiennent des glandes à essence : écorce, feuilles, branches, fleurs et fruits. Le parfum fait partie de l'agrume. Quant à leur durée de vie, les agrumes centenaires sont légion (Bachés et Bachés, 2002).

2.4. Caractéristiques des agrumes

Les agrumes sont des petits arbres ou arbustes, dont la taille peut varier de 2 à 10 mètres de hauteur suivant les espèces. Leur frondaison est généralement dense et leurs feuilles sont persistantes, à l'exception des *Poncirus*. Leurs fruits, constitués de quartiers remplis de petites vésicules très juteuses, constituent leur principale originalité. Les botanistes lui ont donné un nom particulier : hesperidium, du nom du jardin des Hespérides de la mythologie (Bachés et Bachés,

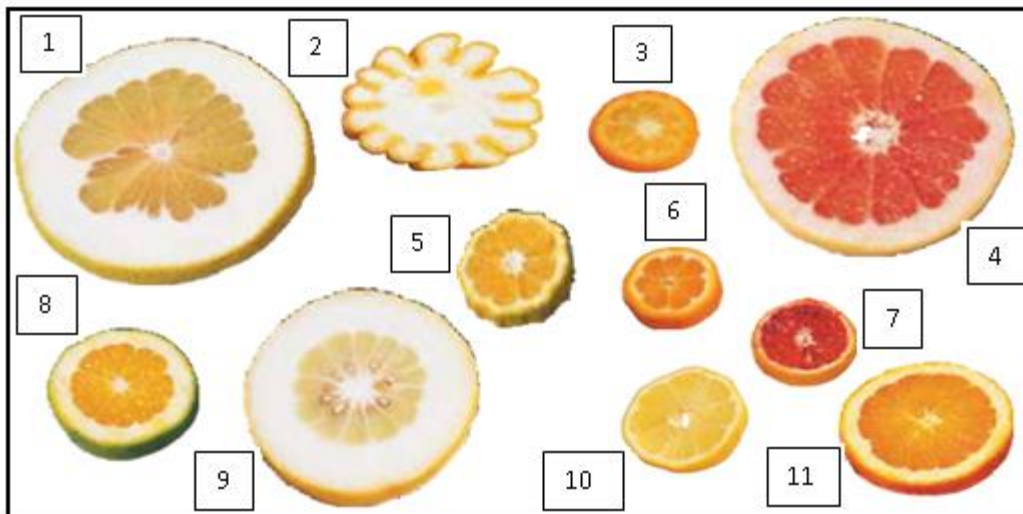
2002).

2.3.1. Les fleurs

Les fleurs sont généralement de couleur blanche, de 4 à 5 pétales imbriqués, souvent recourbés vers l'arrière, souvent très odorantes. Selon les espèces, la floraison en grappe ou en fleur isolée est très abondante. L'époque de floraison varie selon les espèces et le climat, de mars à juillet. La pollinisation est assurée par le vent et les insectes. Pour cette raison, il ne faudra pas oublier d'ouvrir les fenêtres ou de « faire l'abeille » avec un pinceau afin que les agrumes d'appartement fructifient ! **(Bachés et Bachés, 2002).**

2.3.2. Les fruits

Selon les espèces, les fruits mûrissent de novembre à mars. Il faut donc 7 à 10 mois pour qu'une fleur se transforme en un fruit mûr ! Forme, couleur et taille varient selon les espèces et leurs cultivars : du petit kumquat au très gros pamplemousse, de verdâtre à jaune, orange ou rouge, de rond, ovale aux formes plus que bizarres du cédrat 'Digitata'. L'écorce varie aussi beaucoup, de la très fine mandarine au cédrat très épais **(Figure 2) (Bachés et Bachés, 2002).**



1 : Pamplemousse ; 2 : Cédrat Digitata ; 3 : Kumquat ; 4 : Pomelo ; 5 : Bigarade ; 6 : Striata ; 7 : Orange sanguine ; 8 : Mandarine Satsuma ; 9 : Cédrat ; 10 : Citron ; 11 : Orange

Figure 2 : Les différents types des fruits des agrumes (Bachés et Bachés, 2002)

Les graines sont selon les variétés, inexistantes (mandarines Satsuma) ou très nombreuses (bigaradier). Leur quantité varie en fonction des différentes plantes présentes, lors de la pollinisation. Ainsi, l'oranger 'Valencia Late' à côté d'un mandarinier 'Fortune' donnera un fruit à 25 pépins et en présence d'un clémentinier 'Marisol', seulement 2 pépins ! Comme autre

Synthèse bibliographique

phénomène particulier aux agrumes, citons la « navelisation ». Cela correspond à la formation d'un autre petit fruit plus ou moins avorté, soit à l'intérieur soit repoussé vers l'extérieur, formant une protubérance (orange navel). La maturité s'accompagne d'une modification de couleur du fruit et d'un enrichissement en sucres. Cette maturité du fruit s'évalue au taux de sucre et n'est pas forcément corrélée à la coloration. S'il est vrai que le fruit mûr est en général coloré, certains, précoces, comme la mandarine Satsuma, le sont après la maturité **(Bachés et Bachés, 2002)**.

Le froid lié aux variations d'intensité lumineuse (durée du jour) est responsable de la coloration des fruits. Ainsi, sous les tropiques, l'orange reste souvent verdâtre. La recherche éperdue de précocité des clémentines (notamment en Espagne) entraîne l'obligation, début octobre, du dévernissage artificiel des premières récoltes **(Bachés et Bachés, 2002)**.

2.3.3. Les racines

À part les *Poncirus* qui émettent des racines pivotantes profondes, l'enracinement est superficiel et peut s'étendre jusqu'à 6 à 7 m du pied de l'arbre, à la recherche de l'eau et des éléments nutritifs. Cette caractéristique explique la forte sensibilité des agrumes à la sécheresse **(Bachés et Bachés, 2002)**.

2.3.4. Les feuilles et les rameaux

En général, les agrumes se ramifient facilement et naturellement, et possèdent une frondaison dense. Il y a plusieurs poussées de végétation dans l'année, la plus importante étant au printemps, dès que la température dépasse 12 °C. Les rameaux sont assez souvent couverts d'épines (épineux ne signifiant pas sauvage). Les *Poncirus* ont une feuille trifoliée et caduque. Les *Citrus* et *Fortunella* ont une feuille entière et persistante **(Figure 3)**. Cette persistance n'est pas éternelle. La feuille a une durée de vie limitée et les chutes interviennent naturellement à l'automne et au printemps quand de nouvelles pousses apparaissent **(Bachés et Bachés, 2002)**.

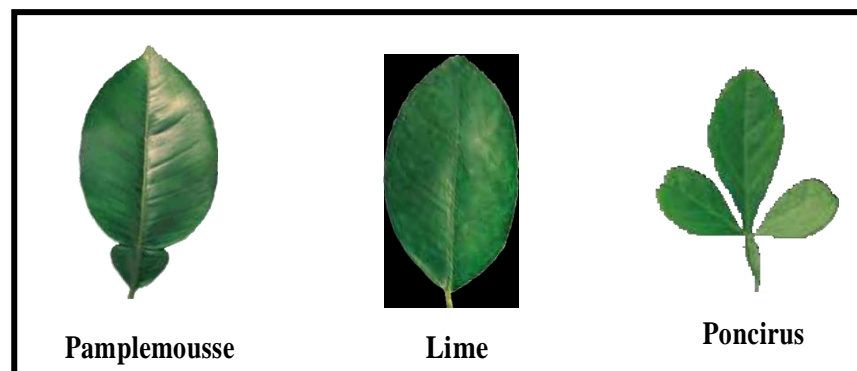


Figure 3 : Les différents types de feuilles des agrumes (Bachés et Bachés, 2002)

3. La production des agrumes

3.1. Dans le monde

La production des agrumes est très diversifiée avec 68 Mt d'oranges ; 29 Mt des petits agrumes ; 14 Mt de citrons et de limes et 5 Mt de pomelos en 2009 (Loillet, 2010). La production mondiale des oranges est de l'ordre de 66,4 millions de tonnes en 2010 ce qui représente une hausse de 14% par rapport au volume enregistré pendant la période 1997- 1999. Et de 60 millions de tonnes en 2000, dont 18 millions de tonnes produites par le Brésil à lui seul, suivi par la Floride avec 11 millions de tonnes et le bassin méditerranéen avec 10 millions de tonnes (Figure 4, Tableau 1) (Anonyme 1, 2012).

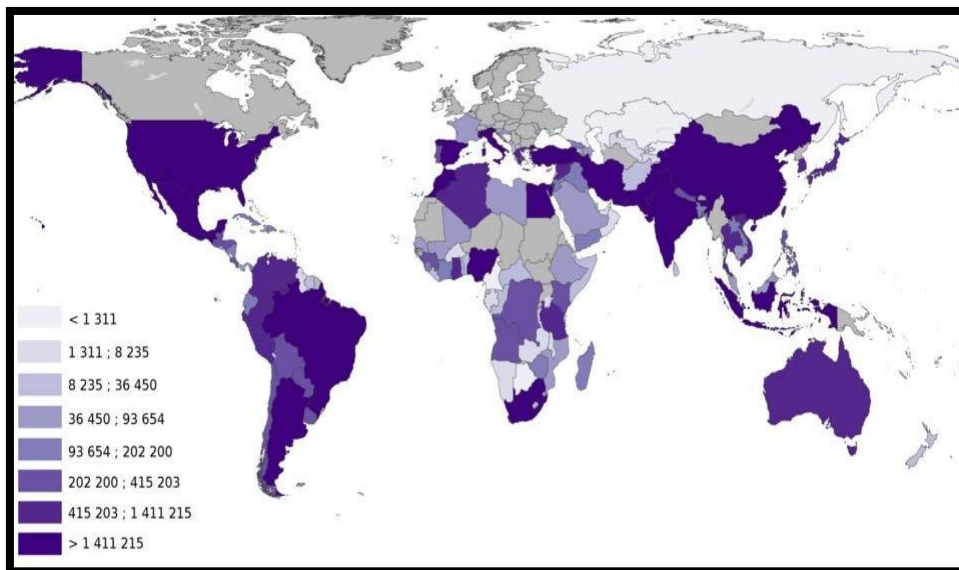


Figure 4 : Répartition géographique de la production mondiale d'agrumes (FAO, 2013)

Synthèse bibliographique

Tableau 1 : Production totale des agrumes dans le monde (FAO, 2016)

	1989/90	1999/00	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14
Moyenne									
(Milliers de tonnes)									
WORLD	58891,7	84209,1	110048,6	113310,2	114724,0	121206,3	121400,4	119164,4	121273,2
Hémisphère Nord 2	41418,6	59453,9	82042,2	85034,4	88310,7	87193,2	89942,8	91530,8	93675,2
États Unis	10740,7	14045,2	11645,8	10740,2	10959,0	11746,0	11629,0	11069,0	9394,0
La région méditerranéenne	14618,9	17373,3	19982,1	21560,0	21805,8	23042,5	22350,1	22293,0	24164,1
Algérie	281,7	368,1	644,3	568,4	571,0	571,0	568,4	568,4	568,0
Moroc	1106,1	1278,5	1116,4	1367,0	1501,8	1701,0	1734,9	1500,5	2205,0
Tunisie	242,1	250,4	344,9	337,6	349,1	395,0	401,8	371,0	393,0
Egypte	1493,1	2207,4	3165,2	3519,8	3576,0	3783,0	4032,0	4150,5	4452,2
Chypre	313,5	280,8	172,6	152,5	174,7	215,9	162,4	173,4	187,0
Grèce	937,7	1187,0	1091,0	822,8	1126,8	1076,8	1096,5	1124,0	1203,3
Italie	3176,0	3173,7	3240,9	3456,3	3799,8	3793,8	3408,4	3597,6	3250,0
Espagne	3680,7	5114,2	5579,4	6369,7	5268,0	6076,4	5720,4	5530,5	6512,6
Israël	1398,5	853,0	579,2	531,9	569,7	477,0	609,8	493,7	496,0
Liban	360,8	358,6	389,0	339,0	250,5	220,0	228,5	216,5	217,0
Syrie	0,0	0,0	795,0	830,4	832,2	895,0	689,6	655,1	655,0
Turquie	1240,3	1685,2	2639,5	3026,0	3571,0	3611,0	3473,0	3678,0	3782,0
Autres	388,3	616,4	224,6	238,5	215,2	226,7	224,4	233,8	243,0
Portugal	146,6	261,3	254,2	281,2	243,4	277,7	233,9	240,1	287,0
Japan	3114,3	1836,0	1261,0	1074,3	1173,2	915,6	1058,7	903,6	988,0
Bélize	76,7	182,9	300,4	266,1	217,1	241,9	246,0	286,0	286,0
Costa Rica	79,5	228,7	269,0	310,0	370,0	325,0	370,0	325,0	315,0

Synthèse bibliographique

Cube	739,7	780,8	391,8	418,0	345,0	264,6	203,7	204,4	204,4
République Dominicaine	12,9	11,4	107,4	148,5	165,6	165,0	198,9	168,5	169,0
Guatemala	105,1	84,1	239,6	285,9	296,6	289,1	292,1	286,0	286,0
Honduras	82,2	121,9	261,3	265,2	286,5	301,3	274,0	296,0	292,0
Jamaïque	60,5	65,8	198,2	179,3	141,6	134,9	127,0	127,8	128,0
Mexique	2557,5	4664,0	7401,0	7033,1	6752,4	7016,4	6587,1	7375,0	7503,0
Ghana	30,0	30,0	539,2	606,7	626,0	645,0	671,0	671,0	671,0
Soudan	13,3	26,6	124,8	124,0	133,5	134,2	138,0	135,0	135,0
Chine	2136,6	8020,2	18877,0	21395,2	23627,0	23025,8	26450,0	27770,0	29567,0
Inde	1974,7	3507,6	7549,0	7966,7	8855,8	6875,0	7400,0	7400,0	7400,0
Indonésie	476,1	5639	2322,6	2131,8	2028,9	1818,9	1611,8	1600,0	1600,0
Iran	933,2	2489,8	3942,3	4306,3	4457,7	4355,6	4468,7	4570,7	4571,0
Koreie	378,6	598,9	746,0	593,0	740,0	565,0	586,0	667,0	672,0
Pakistan	1395,0	1874,9	2293,6	2132,0	2150,0	1982,2	2032,0	2007,0	2007,0
Thaïlande	241,9	411,9	1660,6	1375,1	1119,2	1210,5	1268,0	1268,0	1193,0
Viet Nam	109,2	330,3	622,5	702,6	719,5	756,1	557,5	703,0	703,0
Autres	1395,4	1944,5	1052,9	1139,3	1096,8	1104,7	1189,3	1164,8	1139,7

Synthèse bibliographique

3.2. En Algérie

L'Algérie disposait d'une superficie de 45 000 ha en agrumes à l'indépendance. En 2011, la superficie en agrumes s'étalait sur 63 323 ha. Actuellement, seuls 55 000 ha. Le centre du pays compte 56% de cette superficie d'agrumes, 30% se trouvent à l'est du pays, et 14% à l'Ouest. Les principales wilayas agrumicoles sont : Blida (15 809 ha), Chlef (5 777 ha), Alger (5 065 ha), Relizane (4 417 ha), Mascara (4 232 ha), Mostaganem (4 079 ha) et Tipasa (3 725ha). Enfin, il a été créé le premier Club des agrumiculteurs en Algérie à Tipasa en juillet 2011 (Anonyme 2, 2013). Le tableau 2, représente la production et la superficie totale emblavées d'agrumes pour les 48 wilayas d'Algérie.

Tableau 2 : La production et la superficie totale d'agrumes en Algérie (DSA, 2017)

WILAYA	TOTAL			
	Sup. compl. ha	Sup. en rap. ha	Production q	Rdt q/ha
Chlef	5 705	5 258	1 299 230	247,1
Laghouat	11	11	585	53,2
Bejaïa	1 994	1 809	219 100	121,1
Biskra	87	77	2 967	38,5
Béchar	46	40	4 118	103,0
Blida	17 429	16 461	4 200 727	255,2
Bouira	437	384	38 423	100,1
Tamanrasset	182	182	4 782	26,3
Tlemcen	2 652	2 345	326 240	139,1
Tizi Ouzou	1 419	1 219	284 313	233,2
Alger	5 693	4 724	957 360	202,7
Jijel	377	307	28 859	94,0
Skikda	2 784	2 386	560 300	234,8
Sidi Bel Abbas	2	2	200	100,0
Annaba	559	473	64 100	135,5

Synthèse bibliographique

Guelma	806	602	130 000	215,9
Medea	47	32	2 858	89,3
Mostaganem	4 727	3 977	1 156 761	290,9
Mascara	4 444	4 130	372 150	90,1
Ouargla	21	16	1 160	72,5
Oran	221	202	19 197	94,9
Illizi	126	69	4 619	66,9
Boumerdes	2 137	1 931	392 080	203,0
El Tarf	2 125	1 796	374 000	208,2
El Oued	31	31	452	14,6
Souk Ahras	8	6	549	91,5
Tipaza	4 249	3 612	872 167	241,5
Aïn Defla	1 651	1 377	253 900	184,4
Naâma	2	2	140	70,0
Aïn Témouchent	394	394	33 201	84,3
Ghardaïa	1 052	762	64 307	84,4
Relizane	4 596	4 534	1 041 185	229,6
Total Algérie	66 017	59 151	12 710 030	214,9

Selon leurs exigences en eau et qualité des sols, les agrumes sont localisés essentiellement dans les plaines irrigables (**Guenouni et Kacemi, 2013**) :

- ❖ La plaine de la Mitidja (44%) ;
- ❖ La plaine de Habra et Mascara (25%) ;
- ❖ Le périmètre de Bouna Moussa et la plaine de Safsaf (16%) ;
- ❖ Le périmètre de la Mina et du Bas Chelif (14%).

Synthèse bibliographique

Chapitre 2 : Généralités sur l'espèce *Citrus aurantium*

1. Description de la famille des Rutacées

La famille des Rutacées compte environ 1 500 espèces regroupées en 150 genres. Elles sont présentes essentiellement dans les régions subtropicales et tropicales. Cette famille est caractérisée par la présence, sur les différentes parties de la plante, de poches sécrétrices contenant une huile aromatique. Les Rutacées sont connues pour leurs diverses plantes ligneuses très décoratives (*Choisya*, *skimmia*) mais surtout pour certaines espèces, de très grande importance économique regroupées sous le terme agrumes. Ces derniers appartiennent à trois genres botaniques : les *Fortunella*, les *Poncirus* et surtout les *Citrus*. La plupart des Rutacées fournissent des fruits comestibles (Bellec et Renard, 2010).

2. Description du genre *Citrus*

Le genre *Citrus* constitue, avec ses 145 espèces dénombrés, le genre le plus important. C'est au sein de ce genre que se rencontrent les principales espèces cultivées qui sont reportées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Les principaux *Citrus* cultivés en méditerranée (Loussert, 1989)

Espèces	Variétés d'intérêt commercial
<i>Citrus aurantium</i>	Le Bigaradier (utilisé comme porte-greffe).
<i>Citrus sinensis</i>	L'orange Navel : Washington, Thomson, Navelina, Navelate Les oranges blondes : Salustiana, Hamlin, Shamouti, Valencia Late, Cadenera. Les oranges demi-sanguines : double fin améliorée, Maltaise demi sanguine. Les oranges sanguines : Sanguinelli Nigra, Moro, Tarocco.
<i>Citrus unshiu</i>	Les mandariniers satsuma.
<i>Citrus deliciosa</i>	Les mandariniers communs.
<i>Citrus clementina</i>	Les clémentiniers : les clémentines sans pépins (nombreux clones).
<i>Citrus reticulata</i>	Les autres mandariniers : Mand. Ortanique, Mand. Murcott, Mand. Wilking.
<i>Citrus limon</i>	Les citronniers : Eureka, Lisbonne, Verna, Femminello ovale.
<i>Citrus paradisi</i>	Les pomélos : Marsh Seedless, Duncan, RuShambar.
<i>Citrus medica</i>	Les cédratiers : Cédrat de Corse, Cédrat Diamante
<i>Citrus grandis</i>	Les pamplemoussiers

3. *Citrus aurantium*

3.1. Introduction

L'orange amère, *Citrus aurantium* (**Figure 5**), n'est pas utilisée couramment dans l'alimentation et de ce fait moins bien connu. Cependant, il se retrouve dans d'autres domaines tels que l'industrie pharmaceutique (**Ernould et Audrey, 2008**).



Figure 5 : Morphologie de *Citrus aurantium*
(Saonere Suryawanshi, 2011)

Le bigaradier (*Citrus aurantium*) est l'une des espèces des agrumes qui sont considérés comme les fruits les plus importants dans le monde. Ces fruits sont consommés généralement crus ou sous forme de jus (**Abeyasinghe et al., 2007**).

Citrus aurantium (le bigaradier, l'orange amère ou l'orange de Séville, (**Photo 1**) est connu pour son goût extrêmement amer et aigre (**Bocco et al., 1998**). Il se distingue des oranges douces par leurs fruits à peau plus épaissit, plus rugueuse et à pulpe acide et amer (**Leroy, 1968**). En raison de leur goût aigre et amer, les oranges amères ne sont pas employées comme fruits

Synthèse bibliographique

comestibles, elles sont plutôt utilisées pour la fabrication de jus et des marmelades (confitures d'orange) (Ersus et Cam, 2007).



Photo 1 : Vue d'ensemble d'un arbre de bigaradier (orange amère)
(Maghnia, 15/02/2022)

3.2. Description botanique de *Citrus aurantium*

Le bigaradier est un arbrisseau épineux très décoratif de 4 à 5 m de hauteur, qui produit l'orange amère. Il est largement implanté dans la région méditerranéenne. Son tronc est ramifié et ses feuilles sont vertes brillantes. Ses fleurs blanches sont pourpres et odorantes. Le fruit est ovoïde (Tableau 4) (Hadrich *et al.*, 2009).

3.2.1. Le fruit

Le fruit de l'orange amer (**Photo 2**) est une baie globuleuse cloisonnée à peau chagrinée appelée hespéridé. Cette baie est rouge orangé à maturité, 7 à 8 cm de diamètre, fort aromatique de saveur amère et acide, ce qui la rend impropre à la consommation.

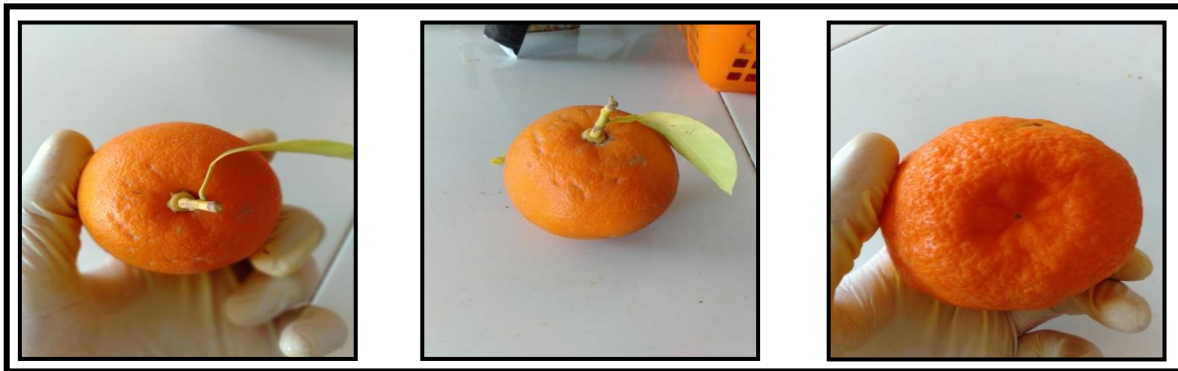


Photo 2 : Fruit du bigaradier (15/02/2022)

Synthèse bibliographique

Il comporte de nombreuses poches sécrétrices schizolysigènes contenant l'huile essentielle. Ces cellules néoformées vont alors se disjoindre et délimiter un méat qui va recevoir les sécrétions aromatiques des cellules qui le bordent. Les cellules du bord externe de la poche vont se diviser activement tandis que les cellules les plus internes vont se rompre, libérant leur contenu dans le méat. La cavité va donc augmenter de volume et s'enrichir en sécrétion. Ainsi se forme une poche de type schizolysigène (du grec schizein = fendre).

Tableau 4 : Description de *Citrus aurantium* (Messaoudi, 2005)

Espèce	<i>Citrus aurantium</i>
Non commun	Bigaradier (orange amère)
Taille de l'arbre	5 à 10 m
Couleur de fruit	Rouge, orange
Forme de fruit	Taille moyenne à peau rugueuse, rond ou ovale
La pulpe	Acide et amère
Épines	À court épines
Feuilles	Bien vertes, pointues, fortement ailées
Fleurs	Blanches et très parfumées

3.2.2. La feuille

La feuille du bigaradier (**Figure 6**) est vert brillant, coriace, persistante, simple, à disposition alterne. Elle est constituée, d'une manière générale d'un limbe (de limbus = coin, rebord) et d'un pétiole (de petiolus = petit pied). Le pétiole permet l'articulation du limbe à sa base sur la tige. Il mesure 10 à 12 mm de long pour une largeur de 6 à 7 mm due à sa forme ailée-cordiforme. La présence d'un appareil sécréteur rend la feuille fortement odorante après froissement. Elle est de saveur aromatique et amère.



**Figure 6 : Feuille du bigaradier
(Giraud et al., 1993 ; Guignard, 1998)**

Synthèse bibliographique

3.3. Systématique de l'espèce *Citrus aurantium*

La position systématique du bigaradier est comme suit : (Manner *et al.*, 2006)

Règne	Végétal
Division	Embryophyta
Sous-division	Angiospermes
Classe	Dicotyledoneae
Ordre	Géraniales
Sous-ordre	Géraniineae
Famille	Rutaceae
Sous-famille	Aurantioideae
Tribu	Citreae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus aurantium L.</i>

3.4. Distribution géographique

C'est le plus résistant des *Citrus*. Il sert donc de porte greffe à tous les autres. Les principes pays producteurs sont (Figure 7) :

- Italie (en Calabre dans la province de Reggio) ;
- Sicile (provinces de Palerme, Messine, Syracuse) ;
- Espagne (plus particulièrement en Andalousie) ;
- Afrique du Nord (le Maroc, la Tunisie, la côte d'ivoire) ;
- Proche Orient (en Israël, au Liban) ;
- La Californie aux États-Unis ;
- Brésil ;
- Les grandes Antilles (Jamaïque, Porto Rico et Haïti) ;
- Paraguay.

En France, le bigaradier est cultivé en grande partie sur le littoral méditerranéen, aux environs de Cannes (Vallauris, le Cannet, Golfe Juan), jusqu'à 350 - 400 mètres d'altitude au pied des contreforts alpins (Vence, Saint-Paul-de-Vence, Cagnes-sur-Mer), dans les régions de Hyères, Toulon et Ollioules, sur le littoral de Corse, dans la région du Roussillon (de Perpignan jusqu'à Port-Vendres) (Cerdagne, 2006).

Synthèse bibliographique

Les principaux pays exportateurs sont : l'Espagne, le Portugal, l'Israël, la Grèce (Crète) et l'ouest de l'Inde (**Teuscher et al., 2005**). Il se reproduit toujours par semis (**Garnier et al., 1961**).

Ainsi, l'oranger amer se cultive en terrasses dans un climat tempéré aux températures douces en hiver (minimum de -3°C) et chaudes en été. En effet, il demande un apport relativement faible en eau (2 à 3 arrosages par mois) car son principal facteur de croissance est le soleil. Malgré les conditions de température et d'ensoleillement, le bigaradier n'exige pas un sol particulier, seulement qu'il ne soit pas trop siliceux (**Giraudn, 1993**).

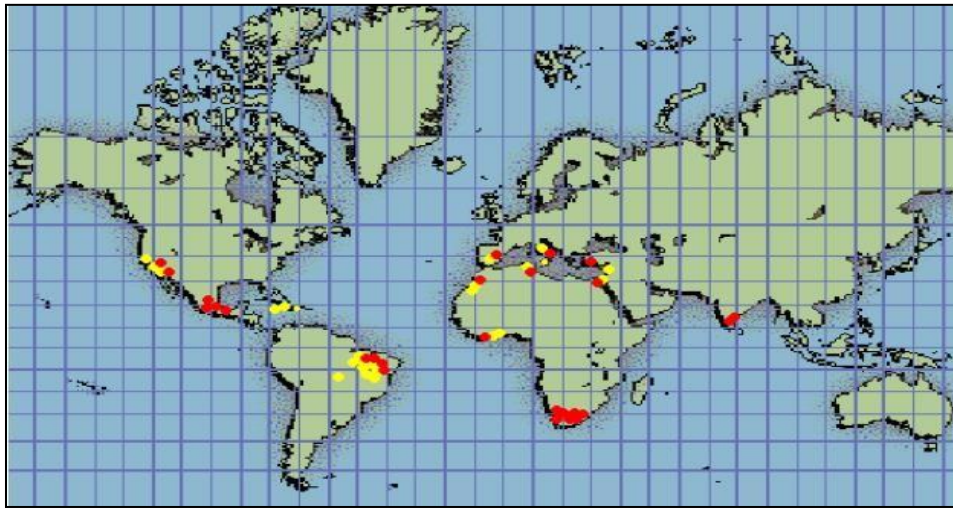


Figure 7 : Les principaux pays producteurs de l'orange amère et douce (**Encyclopédie Encarta, 2006**)

3.5. Les différents usages de *Cirtus aurantium*

3.5.1. Les usages traditionnelles

Les fleurs, très parfumées, servent à préparer l'eau de fleurs d'oranger (môzhar), parfois en mélange avec les fleurs de l'oranger doux. Cette eau de fleurs est très employée en médecine et en cosmétologie traditionnelle. On la donne, aux nourrissons pour calmer leur agitation et pour les aider à s'endormir et, aux adultes, dans le cas d'une aérophagie, associée au carvi. Les fleurs séchées en infusion sont utilisées pour les mêmes indications.

L'écorce du fruit, en décoction ou en poudre, est donnée dans le cas des coliques. Les feuilles fraîches sont administrées en infusion calmante. On utilise l'orange amère entière ou son jus et son écorce pour acidifier et aromatiser les olives. Enfin les fleurs sont utilisées pour aromatiser le thé à la menthe.

Synthèse bibliographique

En phytothérapie, on utilise le fruit pour faciliter la digestion et diminuer les flatulences. En infusion, il est censé dissiper les maux de tête et faire baisser la fièvre. Son jus stimule les défenses du système immunitaire. En Occident, on prescrit ses huiles essentielles pour réguler le rythme cardiaque, calmer les palpitations, favoriser le sommeil. On peut aussi effectuer des massages relaxants avec l'essence de néroli diluée. Enfin, les huiles essentielles d'essences de néroli et de petit-grain sont très employées en parfumerie (Cassan *et al.*, 2008).

3.5.2. Les usages pharmaceutiques

3.5.2.1. Les préparations officinales

Préparations obtenues à partir des fleurs du bigaradier :

- L'eau distillée de fleurs d'oranger : Est un sédatif léger du système nerveux central et un antispasmodique (Girre, 1992). Elle est donc utilisée pour lutter contre les insomnies (particulièrement chez le jeune enfant), les palpitations cardiaques (cœur sain), les crampes musculaires, les maux de têtes (Gontier, 2000 ; Boullard, 2001). Elle peut aussi être utilisée dans les quintes de toux et en cas d'aérophagie chez l'adulte associé au carvi (Bellakhdar, 1997 ; Girre, 1992).

Ses emplois : L'eau distillée de fleur d'oranger (ou extrait) entre dans la composition d'un certain nombre de préparations :

- Julep simple le Julep gommeux
- Sirop de fleurs d'oranger, sirop d'espèces pectorales : le looch blanc, le looch huileux
- Sirop de Desessartz (sirop d'ipécacuanha composé), élixir de Garrus.

Préparations obtenues à partir des fruits de bigaradier :

- La teinture d'écorce d'orange amère : Cette teinture est traditionnellement utilisée comme eupeptique et tonique amer (remontant, stimulant) ainsi que pour ses propriétés apéritives (Schauenberg, 1977 ; Girre, 1995).

Ses emplois : On la retrouve dans la composition de l'ELIXIR GREZ (Laboratoire Monin Chanteaud). Cette préparation est employée dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (ballonnements épigastriques, lenteur digestive, éructation, flatulence) à la posologie de 30 gouttes avant les repas ou pendant les troubles chez l'adulte. La teinture d'écorce d'orange amère constitue également le principe actif de la préparation Quintonine utilisée dans l'asthénie fonctionnelle comme traitement d'appoint à la posologie de 1 cuillère à soupe midi et soir avant les repas, pure ou diluée dans une boisson.

Synthèse bibliographique

- Sirop d'écorce d'orange amère : De même que la teinture d'orange amère, le sirop d'écorce d'orange amère est employé comme eupeptique et tonique amer, ainsi que comme antispasmodique (**Girre, 1995**). Il peut également servir comme édulcorant pour masquer le goût de certains médicaments.

Par ailleurs, Des tests *in vitro* ont montré que le limonène composé majoritaire des huiles essentielles des écorces d'agrumes peut avoir des activités anticancéreuses, antitumorales et favorisant la différenciation cellulaire. Il peut aussi augmenter le métabolisme (thermogenèse) en raison de sa teneur en synéphrine (**Saonere Suryawanshi, 2011**).

3.5.3.2. L'allopathie

L'orange amère utilisé comme aromatisant : L'oranger amère ainsi que ses produits dérivés, du fait de leur saveur et odeur caractéristiques et prononcées, vont pouvoir servir à l'aromatisation d'un certain nombre de préparations pharmaceutiques, qu'elles soient destinées à la voie orale, nasale, buccale ou cutanée.

Parmi les principes aromatisants, les plus souvent rencontrés sont (**Cerdagne, 2004**) :

- L'huile essentielle d'orange amère ;
- L'eau distillée de fleurs d'oranger ;
- L'alcoolat d'orange amère ;
- L'huile essentielle de néroli.

3.5.3. Les usages cosmétiques

Il est commenté dans certains glossaires que l'extrait d'orange amère peut avoir des propriétés antioxydantes lorsqu'il est consommé ; cependant, utilisé par voie topique, sa teneur en méthanol le rend potentiellement irritant pour la peau. L'extrait d'écorce de *C. aurantium* Amara est un extrait de l'écorce de l'orange amère. *C. aurantium* Amara, en tant que matière première, il est utilisé dans des produits cosmétiques tels que le bronzage sans soleil, le revitalisant, le pain de savon, shampoing, maquillage (**Saonere Suryawanshi, 2011**). Ainsi, *C. aurantium* peut être utilisé pour prévenir la fragilité de la peau, rehausser le teint de la peau et stimuler le métabolisme. Il est utilisé également comme ingrédient de parfum.

3.6. Travaux antérieurs

3.6.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus aurantium*

L'huile essentielle de *Citrus aurantium* a fait l'objet de plusieurs études (**Tableau 5**).

Synthèse bibliographique

Selon la littérature, cette huile essentielle est riche en monoterpènes. Le limonène est le composé très majoritaire, suivi de : linalol, myrcène, acétate de linalyle, β et α -pinène, α -terpinéol et *cis*- β -ocimène (**Figure 8**).

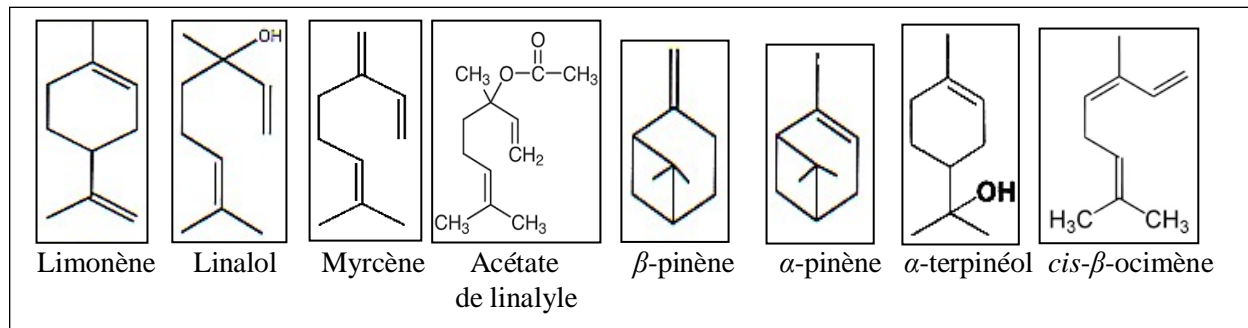


Figure 8 : Structure de quelques composés majoritaires rencontrés dans l'HE de *Citrus aurantium*

Tableau 5 : Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de *C. aurantium* collecté en Afrique du nord, en Iran et en Italie

Parties utilisées	Composés majoritaires	Rendement (%)	Références bibliographiques
ALGERIE			
Ecorces	Linalol (12,0%), <i>trans</i> -carvéol (11,9%), oxyde de <i>cis</i> -linalol (8,1%), carvone (5,8%), acétate endo fenchyle (5,5%), 1,8-cinéole (3,6%), carvacrol (3,4%), pipéritone (3,2%), <i>p</i> -cymèn-8-ol (2,9%), limonène (2,5%), acétate de géranyle (2,4%), oxyde de caryophyllène (2,4%), α -pinène (2,3%), <i>trans</i> -anéthole (2,3%), β -pinène (2,3%), <i>cis</i> -nérolidol (2,1%), pulégone (2,0%), camphre (1,8%), thymol (1,8%), <i>p</i> -mentha-1,3,8- triène (1,5%), dodécanal (1,5%), n-décane (1,5%), n-octane (1,5%), oxyde de <i>cis</i> -limonène (0,8%), safrole (0,8%)		Abderrezak <i>et al.</i> , 2014
Feuilles	Linalol (18,6%), α -terpinéol (15,1%), γ -terpinène (7,0%), β -oplopénone (3,4%), spathuléol (3,3%), oxyde de caryophyllène (3,2%), alcool d' <i>endo</i> -fenchyle (3,2%), β -élémente (3,0%), 1,8-cinéole (3,0%), carvacrol (2,3%), α -sinensal (2,1%), <i>p</i> -cymène (2,0%), camphre (2,0%), géraniol (1,9%), β -citronellol (1,8%), sabinène (1,8%), <i>cis</i> -géraniol (1,8%), β -caryophyllène (1,7%), néral (1,7%), α -pinène (1,7%), acétate de citranellyle (1,7%), β -pinène (1,6%), thymol (1,4%), pulégone (1,3%), δ -3-carène (0,9%), carvone (0,8%)		Abderrezak <i>et al.</i> , 2014
Ecorces	Acétate de linalyle (37,3%), β -linalol (23,4%), acétate de géranyle (6,4%), acétate de néryle (4,1%), β -myrcène (3,2%), limonène (2,2%), ocimne (2,2%), β -pinène (1,6%), carène (1,1%), caryophyllène (1,1%)	0,58% (V/M)	Djenane, 2015
Feuilles	Linalol (63,0%), β -pinène (5,3%), β -myrcène (1,4%), limonène (7,2%), 1,3,6-octatriène,3,7-diméthyl- (1,1%), 1,6-octadièn-3-ol,3,7-diméthyl (5,8%), caryophyllène (2,6%), 2,6-octadièn-1-ol,3,7 diméthyle (1,0%), α -terpinéol (1,0%), 3-hexèn-1-ol (0,9%),citral (0,5%), α -pinène (0,4%), terpinéol-4 (0,4%), α -humulène (0,4%), nérolidol (0,4%)	1,02%	Hamdani <i>et al.</i> , 2015

Synthèse bibliographique

Feuilles	Terpinéol (21,0%), acétate de géranol (18,0%), 1,5-diméthyl-1-vinyl-4-héxeryl ester d'acide anthranilic (12,0%), caryophyllène (11,7%), Phytol (4,4%), 2-méthoxy-4-vinyl-phénol (4,3%), germacrène D-4-ol (4,0%), α -cadinol (3,5%), Elixène (2,9%), acétate de nérol (2,1%), nérolidol (1,5%)	0,57%	Bendali <i>et al.</i>, 2019
MAROC			
Pelures	Limonène (78,4%), géranol (11,2%), β -myrcène (2,6%), β -pinène (1,9%), géranol (1,0%), nérol (0,7%), terpinolène (0,7%), α -ocimène (0,5%), β -ocimène (0,4%), α -pinène (0,4%), α -terpinène (0,4%), linalol (0,3%)	0,27%	Sayah <i>et al.</i>, 2013
Parties aériennes	Linalol (59,0%), acétate de linalyle (23,0)		Aazza <i>et al.</i>, 2011
Zeste	Limonène (96,0%), δ -3-carène (1,4%), sabinène (0,5%)	1,85%	Ouedrhiri <i>et al.</i>, 2015
Feuilles	Linalyl 2-aminobenzoate (41,9), β -linalol (33,0%), α -terpinéol (10,5%), isobutyrate de géranyle (5,7), β -pinène (1,9%), géranol butyrate (2,9), nérol (cis-géranol) (1,6%), (<i>Z</i>)- β -ocimène (0,7%)	0,8%	Ouedrhiri <i>et al.</i>, 2015
Ecorces	Limonène (90,9%), linalol (2,5%), myrcène (1,5%), β -pinène (1,4%), α -terpinéol (0,9%), β -ocimène (0,4%), acétate de linalyle (0,4%), α -pinène (0,4%)	0,3%	Essadik <i>et al.</i>, 2015
Ecorces	D-Limonène (64,1 - 94,1%), β - myrcène (1,3 - 4,0%), oxyde de linalol (0,0 - 3,9%), acétate de linalyle (0,0 - 0,5%), p-linalol (0,0 - 12,6%), α -terpinéol (0,0 - 2,7%), perillaldehyde (0,0 - 5,9%), carvacrol (0,0 - 4,5%), acétate de géranyle (0,0 - 1,9%), 6-méthyl-2-(2-oxiranyl)-5-hepten-2-ol (0,0 - 1,6%), β -linalol (0,0 - 5,4%), β -pinène (0,0 - 0,7%), α -pinène (0,0 - 0,8%)	1,1 - 4,5%	Bendaha <i>et al.</i>, 2016

Synthèse bibliographique

Parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs)	Linalol (27,7%), α -terpinéol (14,1%), γ -terpinène (7,3%), oxyde de cis-linalol (6,0%), nérol (6,0%), oxyde de caryophyllène (4,7%), carvacrol (3,8%), β -citronellol (3,5%), spathuléol (3,2%), 1,8-cinéole (3,1%), β -pinène (3,1%), β -oplopénone (2,7%), acétate de citronellyle (2,5%), camphène (2,0%), géraniol (1,2%), citroptène (1,0%), oxyde de cis-limonène (1,5%), α -pinène (1,1%), terpinéol-4 (0,8%)		Ainane et al., 2018
Ecorces	D-Limonène (35,2%), β -linalol (18,2%), β -myrcène (17,6%), acétate de linalyle (5,3%), α -terpinéol (3,5%), β -ocimène (4,2%), β -pinène (3,7%), α -pinène (3,1%), oxyde de linalol (2,5%), capryladehyde (1,6%), décanal (1,5%), acétate de géranyle (1,5%), décanol (1,2%), nérol (1,0%)	1,12%	Benayad et al., 2021
TUNISIE			
Ecorces	Limonène (90,6%), β -myrcène (1,6%), linalol (1,5%)	0,7%	Boussaada et Chemli, 2006
Feuilles	Linalol (36,8%), acétate de linalyle (22,1%), α -terpinéol (11,7%), géraniol (7,1%), acétate de géranyle (6,0%), acétate de néryle (3,2%), nérol (2,4%), β -myrcène (2,3%), (<i>E</i>)- β -ocimène (2,3%), β -pinène (1,3%), limonène (0,7%)	0,6%	Boussaada et Chemli, 2006
Fleurs	Linalol (34,4%), acétate de linalyle (11,3%), limonène (10,9%), α -terpinéol (6,6%), β -pinène (5,2%), géraniol (4,2%), sabinène (4,1%), farnésol (3,9%), (<i>E</i>)- β -ocimène (3,7%), acétate de géranyle (3,4%), β -myrcène (1,8%), acétate de néryle (1,8%), nérol (1,4%)	0,1%	Boussaada et Chemli, 2006
Ecorces	Limonène (87,0 - 92,2%), β -myrcène (1,4 - 1,7%), linalol (0,6 - 1,3%), α -terpinéol (0,5 - 0,7%), terpinolène (0,4 - 0,6%), α -pinène (0,3 - 0,4%), β -pinène (0,2 - 0,3%)	0,8 - 1,3%	Boussaada et Chemli, 2007

Synthèse bibliographique

Feuilles	Linalol (23,2 - 32,2%), acétate de linalyle (33,2 - 41,6%), α -terpinéol (7,3 - 9,0%), géraniol (4,9 - 6,4%), acétate de géranyle (4,5 - 6,4%), acétate de néryle (2,3 - 3,4%), nérol (1,7 - 2,2%), β -myrcène (1,9 - 2,5%), (<i>E</i>)- β -ocimene (1,8 - 2,9%), β -pinène (1,0 - 2,4%), (<i>Z</i>)- β -ocimene (0,8 - 1,1%), limonène (0,5 - 0,8%), caryophyllène (0,2 - 0,7%), terpinolène (0,4 - 0,6%)	0,5 - 0,9%	Boussaada et Chemli, 2007
Ecorces	Limonène (89,6 - 93,0%), linalol (0,8 - 2,0%), β -myrcène (1,5 - 1,6%), terpinolène (0,5 - 0,6%), α -terpinéol (0,4 - 0,6%), β -pinène (0,2 - 0,5%), acétate de linalyle (0,2 - 0,5%), α -pinène (0,4 - 0,4%), acétate de géranyle (0,2 - 0,3%)	0,8 - 1,1%	Boussaada et al., 2007
Feuilles	Acétate de linalyle (33,8 - 41,1%), linalol (22,5 - 27,0%), α -terpinéol (7,8 - 9,0%), acétate de géranyle (5,3 - 6,2%), géraniol (5,3 - 6,1%), acétate de néryle (2,7 - 3,3%), (<i>E</i>)- β -ocimene (2,8 - 2,9%), β -myrcène (2,4 - 2,5%), β -pinène (1,9 - 2,4%), nérol (1,8 - 2,2%), (<i>Z</i>)- β -ocimene (0,9 - 1,0%), limonène (0,6 - 0,7%), terpinolène (0,5 - 0,6%), caryophyllène (0,4 - 0,5%)		Boussaada et al., 2007
Fleurs	Linalol (30,1 - 35,9%), acétate de linalyle (9,8 - 14,3%), limonène (6,3 - 11,2%), β -pinène (8,5 - 11,0%), farnésol (3,1 - 7,4%), (<i>Z</i>)- β -ocimene (6,2 - 6,5%), α -terpinéol (4,4 - 5,3%), acétate de géranyle (2,7 - 3,8%), géraniol (2,9 - 3,4%), β -myrcène (1,5 - 1,8%), acétate de néryle (1,4 - 1,8%), nérolidol (0,9 - 1,7%), nérol (0,9 - 1,6%), sabinène (0,8 - 1,3%), (<i>E</i>)- β -ocimene (0,5 - 0,7%), α -pinène (0,4 - 0,4%), terpinolène (0,3 - 0,4%)		Boussaada et al., 2007
Ecorces	Limonène (96,9%), β -pinène (1,4%)	1,24%	Hosni et al., 2010
Ecorces	Limonène (91,0%), α -terpinène (1,6%), α -pinène (1,4%), carvacrol (0,7%), α -thujène (0,4%), β -pinène (0,4%), α -terpinéol (0,4%)	0,46%	Bourgou et al., 2011

Synthèse bibliographique

Feuilles	Linalol (64,1%), terpinéol-4 (19,2%), acétate de fenchyle (2,8%), méthyle oxyde de cavacryle (8,1%), acétate de linalyle (1,1%), 8-hydroxymenthol (3,0%)	0,18%	Hosni et al., 2013
Ecorces	Limonène (88,2%), β -pinène (4,2%), linalol (3,2%), acétate de linalyle (0,5%), terpinéol-4 (0,4%)	0,365 \pm 0,15%	Khaled et al., 2013
Ecorces	Limonène (90,3%), linalol (1,6%), α -terpinène (1,1%), 1,8-cinéole (0,9%), α -terpinéol (0,6%), E,Z-acétate de farnésyle (0,6%), α -pinène (0,6%), sabinène (0,5%)		Jabri-karoui et Marzouk, 2013
Feuilles	Linalol (36,2%), oxyde de caryophyllène (17,3%), α -terpinéol (15,7%), acétate de linalyle (8,2%), germacrène B (3,2%), β -oplopénone (2,4%), nérol (2,3%), acétate de géranyle (1,9%), β -caryophyllène (1,6%), 1-(2,3,4,5-tétraméthyle phényle)-butan-1-one (1,4%), cédrénol (1,2%), α -cyclogéranol (1,1%), α -calacorène (1,0%), <i>cis</i> - α -santalol (1,0%)	3,75%	Ellouze et Abderrabba, 2014
Ecorces	Limonène (87,0%), α -terpinéol (6,7%), linalol (6,2%)	1,17%	Trabelsi et al., 2014 ; 2016
Feuilles	Linalol (22,1%), β -fenchyl alcool (8,4%), acétate de géranyle (4,9%), acétate de néryle (2,6%), β -caryophyllène (2,2%), nérol (1,3%), <i>trans</i> - β -ocimène (1,2%), δ -2-carène (1,1%), myrcène (1,0%)	0,08%	Trabelsi et al., 2014 ; 2016
Fleurs	Acétate de linalyle (53,8%), linalol (39,7%), acétate de linalyle (25,4%), α -terpinéol (7,3%), nérolidol (6,9%), farnésol (4,3%), β -pinène (3,0%), acétate de géranyle (3,0%), limonène (2,2%), acétate de néryle (1,7%), nérol (1,0%)	0,48%	Trabelsi et al., 2014 ; 2016
Fruits	Limonène (87,5%), linalol (3,4%), β -myrcène (1,6%), α -terpinéol (0,9%), néral (0,8%), α -pinène (0,6%), β -pinène (0,5%), géranyol (0,4%), octanal (0,4%), (E)- β -ocimène (0,3%)	0,67%	Zarrad et al., 2017

Synthèse bibliographique

Feuilles	Linalol (39,3%), acétate de linalyle (32,10%), α -terpinéol (10,8%), limonène (5,3%), acétate de terpényle (4,4%), géraniol (2,0%), α -terpinène (1,6%), terpinéol-4 (0,9%), α -pinène (0,7%), Z-caryophyllène (0,4%), β -myrcène (0,3%), β -pinène (0,2%)	0,56%	Métoui <i>et al.</i>, 2017
Ecorces	Limonène (73,6%), linalol (4,8%), néral (3,3%), (<i>E,E</i>)- α -farnésène (2,5%), acétate de linalyle (1,6%), acétate d' α -terpényle (1,4%), γ -élémente (1,2%), β -pinène (0,9%), myrcène (0,9%), β -caryophyllène (0,6%), méthyle d'antranilate (0,6%)	1,35%	Bnina <i>et al.</i>, 2019
Feuilles	Linalol (37,2%), α -thujène (10,6%), β -pinène (9,7%), acétate de linalyle (7,9%), limonène (5,0%), oxyde de <i>trans</i> -linalol (3,9%), néral (3,4%), <i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol (3,1%), γ -élémente (2,6%), camphène (1,9%), acétate de géranyle (1,7%), δ -élémente (1,6%), α -fenchène (1,2%), β -caryophyllène (1,0%), α -terpinène (0,8%), α -pinène (0,7%), α -pinène (0,7%)	0,40%	Bnina <i>et al.</i>, 2019
Fleurs	Linalol (41,8%), acétate de linalyle (13,8%), β -pinène (9,2%), limonène (6,5%), α -thujène (6,2%), néral (4,8%), acétate d' α -terpényle (2,6%), acétate de géranyle (2,5%), géraniol (2,5%), camphène (1,9%), α -terpinéol (1,3%), (<i>E</i>)-nérolidol (1,1%), acétate de néryle (1,0%), α -pinène (0,8%), α -terpinène (0,7%)	0,12%	Bnina <i>et al.</i>, 2019
EGYPTE			
Feuilles	Linalol (49,9%), acétate de linalyle (13,1%), α -terpinéol (8,8%), géraniol (4,7%), acétate de géranyle (4,5%), <i>trans</i> - β -Ocimène (2,2%), acétate de néryle (2,2%), myrcène (2,0%), nérol (1,7%)	0,7%	Sherif <i>et al.</i>, 2015

Synthèse bibliographique

Feuilles et brandilles	Terpinéol-4 (22,6%), D-limonène (16,7%), 4-carvomenthénol (12,8%), linalol (7,8%), méthyle de méthanthranilate (4,4%), <i>cis</i> -4-thujanol (3,7%), γ -terpinène (3,6%), tétra-neurin- α -diol (2,6%), 6, 9,12,15-docosatétraenoic acid methyl ester (2,5%), acétate de linalyle (2,3%), dodécane (1,6%), β -pinène (1,2%), α -terpinéol (1,0%), ascaridol (1,0%)	3,45% (V/W)	Okla <i>et al.</i>, 2019
Petites branches	D-Limonène (71,6%), dodécane (4,8%), undécane (2,3%), terpinéol-4 (2,1%), 1-nonadécanol (2,1%), γ -terpinène (2,0%), myrcène (1,1%), <i>cis</i> -Z- α -bisabolène époxide (1,0%), α -terpinéol (1,0%)	1,55%	Okla <i>et al.</i>, 2019
Ecorces de branches	D-limonène (54,6%), γ -terpinène (6,7%), dodécane (5,7%) diméthyl-anthranilate (3,1%), undécane (3,0%), tétradécyloxirane (2,1%), éthyl iso-allocholate (2,0%), terpinéol-4 (1,6%), myrcène (1,5%), 1,3-dioleïn (1,5%), β -pinène (1,4%), α -pinène (1,3%), décane (1,3%), tétrahydrofarnésol (1,2%), 2,6,10-triméthyltétradécane (1,2%), 4-carvomenthénol (1,2%), α -terpinéol (1,2%), (E)-2,3-époxy-carène (1,0%)	1,10%	Okla <i>et al.</i>, 2019
Bois de branches	D-Limonène (38,1%), diméthyle d'anthranilate (8,1%), (-)- β -fenchol (6,8%), dodécane (5,3%), 4-carvomenthénol (4,2%), γ -terpinène (3,6%), <i>cis</i> -4-thujanol (3,5%), thymol (3,3%), valencène (3,3%) linalol (2,9%). 6,7-dihydrogéraniol (2,2%), undécane (2,1%), 1-eicosanol (1,7%), α -pinène (1,5%), β -pinène (1,5%), (Z)-citral (1,4%), 7-méthyle pentadécane (1,1%), farnésol (1,1%), myrcène (1,0%), terpinéol-4 (1,0%)	1,15%	Okla <i>et al.</i>, 2019
IRAN			
Hydrolat des fleurs	Limonène (0,0 ; 0,0 ; 46,6%), linalol (15,4 ; 44,1 ; 13,8%), géraniol (26,6 ; 0,0 ; 0,0%), α -terpinéol (20,7 ; 2,6 ; 6,6%), 1,8-cinéole (0,0 ; 0,0 ; 15,9%), anthranilate de méthyle (4,9 ; 11,8 ; 0,0%), oxyde de <i>cis</i> -linalol (3,7 ; 6,1 ; 0,0%), benzène acétaldehyde (5,5 ; 0,0 ; 0,0%), eugénol (0,2 ; 0,0 ; 4,6%), carvacrol (0,0 ; 0,2 ; 4,3%), oxyde de <i>trans</i> -linalol (1,1 ; 3,8 ; 0,0%), terpinéol-4 (2,6 ; 2,7 ; 1,5%), acétate de	0,015% ; 0,003% ; 0,002%	Monsef-Esfahani <i>et al.</i>, 2004

Synthèse bibliographique

	géranyle (2,6 ; 0,0 ; 0,0%), liac aldehyde (2,1 ; 0,0 ; 0,0%), sabinène (0,6 ; 0,2 ; 1,9%), indol (1,9 ; 0,2 ; 0,0%), tetradécan (0,1 ; 1,5 ; 0,0%), α -terpinène (0,0 ; 1,0 ; 0,0%), anéthole (0,0 ; 0,0 ; 1,0%), thymol (0,5 ; 1,0 ; 0,0%), <i>trans</i> -nérolidol (1,0 ; 0,2 ; 0,0%), acétate de néryle (1,3 ; 0,0 ; 0,9%), pentadécane (0,0 ; 0,9 ; 0,0%), pulégone (0,0 ; 0,8 ; 0,0%), β -pinène (0,0 ; 0,6 ; 0,3%), <i>cis</i> -carvéol (0,6 ; 0,1 ; 0,0%), α -pinène (0,0 ; 0,5 ; 0,3%), β -myrcène (0,2 ; 0,5 ; 0,1%)		
Feuilles	Linalol (39,4%), acétate de linalyle (38,8%), α -terpinéol (7,2%), acétate de géranyle (4,5%), β -pinène (3,8%), acétate de néryle (2,5%)	0,19% (V/W)	Azadi et al., 2012
Ecorces	Limonène (91,3%), β -myrcène (3,0%), linalol (1,1%), α -pinène (1,0%), β -pinène (0,9%), (<i>E</i>)- β -ocimène (0,5%), acétate de linalyle (0,5%)	1,95% (V/W)	Azadi et al., 2012
Feuilles	Limonène (57,6%), linalol (8,0%), <i>trans</i> - β -ocimène (4,7%), caryophyllène (2,6%), myrcène (2,4%), α -bisabolène (2,1%), carvacrol (1,4%), α -bergamotène (1,3%), germacrène D (1,1%), (<i>E</i>)-anéthole (1,1%), spathuléol (1,0%), cadinol (1,0%)	1,1%	Majnooni et al., 2012
Feuilles	Limonène (62,0%), linalol (7,5%), <i>trans</i> - β -ocimène (3,5%), caryophyllène (2,1%), α -bisabolène (1,8%), myrcène (1,2%)		Gholivand et Piryaeei, 2013
Ecorces	D-limonène (94,8%), β -myrcène (1,0%), β -pinène (0,7%), terpinolène (0,4%), α -pinène (0,3%), acétate de linalyle (0,3%)	0,7 ± 0,12%	Sanei-Dehkordi et al., 2016
Epicarpe	Limonène (85,5%), α -pinène (1,3%), β -myrcène (3,8%), linalol (2,7%), β -pinène (1,0%), acétate de linalyle (0,9%), β -ocimène (0,7%), octanal (0,7%), α -terpinéol (0,5%), acétate de géranyle (0,4%)	1,0%	Farahmadfar et al., 2019

Synthèse bibliographique

ITALIE			
Fruits	Limonène (80,1%), linalol (5,5%), β -pinène (1,6%), myrcène (1,3%), acétate de linalyle (0,8%)		Chialva et Doglia, 1990
Ecorces	Limonène (94,3%), myrcène (1,9%), linalol (0,8%), α -pinène (0,4%), β -pinène (0,3%), octanol (0,3%), α -terpinéol (0,3%), (<i>E</i>)- β -ocimène (0,2%)		Duccio et al., 1998
Fleurs	Linalol (44-53%), α -terpinéol (5-6%), acétate de linalyle (2-15%), limonène (8-12%), (<i>E</i>)- β -ocimène (3-5%), géraniol (3-4%), acétate de géranyle (3%), (<i>E</i>)-nérolidol (1-3%), (<i>E,E</i>)-2,6-farnésol (1-2%), β -pinène (2-4%), acétate de neryle (1,5%)	(0,08 - 0,13%)	Bonaccorsia et al., 2011
Fruits	d-Limonène (93,0%), myrcène (1,9%)		Frassinetti et al., 2011
Fruits	Limonène (93,2 - 93,9%), myrcène (1,7 - 1,8%), β -pinène (0,6 - 1,3%), acétate de linalyle (0,6 - 1,2%), α -pinène (0,5 - 0,6%)		Dugo et al., 1993
Fruits	Limonène (68,0 - 96,5%), carvone (tr - 3,0%), oxyde de <i>trans</i> -limonène (tr - 2,6%), acétate de néryle (tr - 2,4%), <i>trans</i> -carvéol (tr - 2,3%), myrcène (0,2 - 1,6%), acétate de géranyle (0,1 - 1,6%) oxyde de <i>cis</i> -limonène (tr - 1,0%), α -terpinéol (tr - 0,9%), <i>cis</i> -carvéol (tr - 0,9%), limonén-10-ol (0,0 - 0,9%), acétate de linalyle (0,0 - 0,8%), β -pinène (0,1 - 0,6%), (<i>E</i>)- β -ocimène (tr - 0,5%)		Dugo et al., 2011
Feuilles	Acétate de linalyle (54,6%), linalol (27,8%), α -terpinéol (3,0%), acétate géranyle (2,8%), limonène (1,9%), (<i>E</i>)- β -ocimène (1,6%), acétate néryle (1,3%), myrcène (1,2%), β -pinène (0,7%), δ -3-carène (0,7%), nérol (0,7%), β -caryophyllène (0,5%)		Dugo et al., 2011
	Linalol (43,7 - 53,3%), acétate de linalyle (2,2 - 14,6%), limonène (7,9		

Synthèse bibliographique

Fleurs	- 11,9%), α -terpinéol (4,9 - 6,2%), (<i>E</i>)- β -ocimène (3,3 - 5,7%), géraniol (2,9 - 3,8%), β -pinène (1,9 - 3,7%), (<i>E</i>)-nérolidol (1,2 - 3,2%), acétate de géranyle (3,0 - 3,1%), (<i>E,E</i>)-2,6-farnésol (1,2 - 2,0%) myrcène (1,4 - 1,7%), sabinène (0,9 - 1,6%), acétate de néryle (1,4 - 1,5%), nérol (1,0 - 1,3%), β -caryophyllène (0,6 - 0,9%), terpinéol-4 (0,4 - 0,8%)		Dugo <i>et al.</i> , 2011
GRECE			
Ecorces	Limonène (96,7%), α -pinène (0,4%)		Michaelakis <i>et al.</i> , 2009
Fruits	Limonène (31,7%), linalol (31,8%), acétate de linalyle (10,7%), γ -terpinène (10,3%), α -terpinéol (3,9%), acétate de géranyle (1,3%), myrcène (1,3%), α -pinène (0,9%), β -pinène (0,8%), terpinolène (0,8%), <i>trans</i> - β -ocimène (0,8%), acétate de néryle (0,7%), <i>cis</i> -ocimène (0,5%), nérol (0,5%)	1,8%	Melliou <i>et al.</i> , 2009
Feuilles	Linalol (34,5%), acétate de linalyle (29,8%), acétate de géranyle (9,4%), α -terpinéol (7,0%), acétate de néryle (4,9%), <i>trans</i> - β -ocimène (2,4%), nérol (1,9%), myrcène (1,8%), <i>cis</i> -ocimène (1,1%), γ -terpinène (0,9%), géraniol (0,7%), limonène (0,7%), terpinolène (0,7%), <i>trans</i> -caryophyllène (0,5%)	0,55%	Melliou <i>et al.</i> , 2009
Ecorces	Limonène (94,7%), myrcène (2,0%), linalol (0,8%), β -pinène (0,6%), α -pinène (0,5%), <i>cis</i> - β -ocimène (0,3%)	1,67%	Sarrou <i>et al.</i> , 2013
BRESIL			
Ecorces	D-Limonene (90,4%)		Carvalho-Freitas et Costa, 2002
Ecorces	Limonène (97,8%), myrcène (1,4%), octanal (0,5%)		Moraes <i>et al.</i> , 2009
Ecorces	Limonène (98,7%), β -myrcène (0,5%), β -pinène (0,4%)	0,50%	Costa <i>et al.</i> , 2013

Synthèse bibliographique

BULGARIE			
Zeste	D-Limonène (85,2%), β -myrcène (4,3%), β -pinène (1,3%), sabinène (1,0%), n-caprylaldehyde (0,9%), cyclofenchène (0,9%), n-décaldéhyde (0,7%), β -pellandène (0,4%), β -linalol (0,4%)		Teneva et al., 2019
ILE MAURICE			
Feuilles	Linalol (66,1%), terpinéol-4 (20,9%), citronellol (2,3%), géranol (6,6%), <i>cis</i> -carvéol (1,0%), géranol (1,0%), acétate de néryl (0,5%)	0,65% (V/W)	Gurib-Fakim et Demarne, 1995
VENEZUELA			
Fruits	Limonène (77,9%), β -pinène (3,4%), myrcène (1,8%), <i>trans</i> -ocimène (1,2%), acétate de linalyle (4,0%), linalol (0,9%), β -nérolidol (0,9%), sabinène (0,6%), α -pinène (0,5%), valencène (0,5%), décanal (0,5%), acétate de géranyle (0,4%), dodécanal (0,4%)		Quintero et al., 2009
TURQUIE			
Fruits	Limonène (93,7 - 94,3%), myrcène (1,7 - 1,9%), acétate de linalyle (1,2 - 1,3%), β -pinène (0,4 - 0,6%), linalol (0,3 - 0,5%)		Kirbaslar et Kirbaslar, 2003
Ecorces	Limonène (94,1%), myrcène (1,8%), acétate de linalyle (1,2%), linalol (0,4%)		Kirbaslar et al., 2009
FRANCE			
Ecorces	Limonène (48,8 - 95,1%), β -pinène (tr - 19,3%), γ -terpinène (0,0 - 7,8%), <i>p</i> -cymène (0,0 - 6,5%), acétate de linalyle (0,0 - 5,0%), (<i>E</i>)-nérolidol (0,0 - 3,2%), sabinène (0,1 - 3,2%), germacrène D (0,0 - 2,1%), myrcène (1,3 - 1,8%), linalol (tr - 1,5%), α -pinène (0,0 - 1,5%),		Lota et al., 2001

Synthèse bibliographique

	géralial (0,0 - 1,4%), terpinéol-4 (0,0 - 1,2%), acétate de géranyle (0,0 - 1,1%), néral (0,0 - 1,0%)		
Feuilles	Sabinène (0,3 - 52,6%), limonène (0,6 - 44,0%), linalol (1,0 - 37,7%), acétate de linalyle (0,0 - 36,8%), β -pinène (2,1 - 36,7%), (<i>E</i>)- β -ocimène (2,5 - 15,1%), α -terpinéol (0,3 - 11,8%), terpinéol-4 (0,0 - 7,0%), géranol (0,0 - 6,7%), acétate de géranyle (0,1 - 5,5%), acétate de néryle (0,1 - 2,9%), nérol (tr - 2,3%)	0,3 - 0,5%	Lota <i>et al.</i>, 2001
CUBA			
Fruits	Limonène (86,2%), myrcène (4,9%), α -pnène (0,9%), β -pinène (0,6%), γ -terpinène (0,7%), α -terpinéol (0,4%), acétate de terpinén-4-yl (0,7%), acétate de néryle (0,5%), acétate de géranyle (0,5%), β -bisabolène (0,5%)		Pino et Rosado, 2000
JAPON			
Epicarpe	Limonène (94,7%), myrcène (1,6%), acétate de linalyle (1,1%), α -pinène (0,5%), β -pinène (0,7%)	1,03%	Njoroge <i>et al.</i>, 1994 ; Njoroge <i>et al.</i>, 2003

Synthèse bibliographique

3.6.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de *Citrus aurantium*

Les propriétés biologiques de *Citrus aurantium* ont fait l'objet de plusieurs études :

3.6.2.1. Activité antioxydante

Selon la littérature, l'activité antioxydante de *C. aurantium* a fait l'objet de plusieurs travaux.

En **2011**, **Frassinetti et al.** ont réalisé une étude sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de *C. aurantium*. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle présente un faible pouvoir antioxydant, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 55% à une concentration de 1000 µg/ml) par comparaison au composé de référence, le Trolox : 80% à une concentration de 100 µg/ml.

En **2013**, **Jabri-karoui et Marzouk**, ont étudié l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique du jus et des écorces du bigaradier, par plusieurs méthodes : La capacité antioxydante totale (CAT), le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), le blanchiment du β -carotène et le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP). Les résultats obtenus par le test DPPH, le pouvoir réducteur de l'ion ferrique et par le blanchiment du β -carotène ont montré une bonne activité antioxydante des écorces, avec des CI_{50} de l'ordre de : $190,00 \pm 0,01$ µg/ml ; $1,88 \pm 0,05$ et $5,81 \pm 0,03$ mg/ml, respectivement. De même, **Majnooni et al.** en **2012**, avancent un fort pouvoir antioxydant des feuilles de *C. aurantium*, déterminé par deux méthodes, à savoir : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et le pouvoir réducteur de l'ion ferrique. En effet, ils ont obtenus des CI_{50} très faibles de l'ordre de : $1,04 \pm 0,9$ mg/ml et $1,58 \pm 1,03$ mg/ml, respectivement, des valeurs proches de celles du standard : BHA ($0,16 \pm 1,13$ mg/ml et $0,25 \pm 1,8$ mg/ml, respectivement).

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de plusieurs organes de *C. aurantium* (écorce, fleurs, jeunes feuilles et feuilles âgées) a été également évaluée par **Sarrou et al.**, en **2013**. Ils rapportent une importante activité pour les feuilles âgées, un pouvoir antioxydant modérée pour les fleurs et une très faible activité pour les jeunes feuilles et les écorces. En effet, les pourcentages d'inhibition obtenu par le test de DPPH• sont de l'ordre : 94,36%, 53,98%, 22,79% et 19,29%, respectivement à une concentration de 54 mg/ml.

Synthèse bibliographique

En 2014, **Trabelsi *et al.***, ont étudié l'activité antioxydante des HEs des feuilles, des fleurs et des écorces du bigaradier récoltés en Tunisie, par deux méthodes : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), le piégeage du radical-cation ABTS^{•+} (l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Les résultats obtenus du test DPPH ont montré que les écorces sont les plus actifs, avec des CI₅₀ de l'ordre de 800 ± 0,11 µg/ml, mais qui reste très faible par comparaison avec celle du contrôle positif (Trolox : CI₅₀ = 2,08 ± 0,08 µg/ml).

Ouedrhiri *et al.* en 2015 avancent que le zeste de *C. aurantium* possède une activité anti-radicalaire plus importante par comparaison à l'huile essentielle des feuilles, avec une CI₅₀ de l'ordre de 26,99 mg/ml contre 496,2 mg/ml. Ils rapportent également que cette activité est très faible par rapport au standard (BHT).

En 2016, **Oulebsir-Mohandkaci *et al.*** rapportent que l'huile essentielle des écorces de *C. aurantium* possède une activité antioxydante modérée déterminée par le test du DPPH, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 65% à une concentration de 1000 µg/ml.

Teneva *et al.*, 2019, ont déterminé l'activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* par le test de DPPH. Ils avancent que cet échantillon possède un fort pouvoir anti-radicalaire, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 88% à une concentration de 1,0 mg/ml.

Farahmadfar *et al.* en 2019 ont également évalué l'activité antioxydante de l'huile essentielle des écorces de *Citrus aurantium* par le test de DPPH. Ils ont obtenu une CI₅₀, de l'ordre de 29,51 mg/ml.

3.6..2.2. Activité antimicrobienne

Selon la littérature, l'activité antimicrobienne de *C. aurantium* a fait l'objet de plusieurs études reportées dans le tableau 6.

Synthèse bibliographique

Tableau 6 : Activité antimicrobienne selon la littérature

Méthodes utilisées	Souches microbiennes	Résultats	Références bibliographiques
- Diffusion sur disque	<i>S. aureus</i> <i>Pseudomonas sp.</i>	Fruits 17 mm -	Quintero et al., 2009 (Venezuela)
- Diffusion sur disque	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Rhodotorula rubra</i> <i>Candida albicans</i> <i>Hanseniaspora guilliermondii</i> <i>Debaryomyces hansenii</i>	Ecorces 12 mm 12 mm 12 mm 11 mm 12 mm 15 mm 10 mm 12 mm 11 mm 12 mm 12 mm 12 mm 12 mm 13 mm	Kirbaşlar et al., 2009 (Turquie)
- Contact direct en milieu liquide	<i>Xanthomonas campestris</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella cholerasuis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	Fruits (µg/ml) 20 ; 20 ; 25 25 ; 35 50 75 200 150 100	Frassinetti et al., 2011 (Italie)
- Diffusion sur disque	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i>	Ecorces 14,0 mm 14,0 mm 8,0 mm	Bourgou et al., 2011 (Tunisie)
- Contact direct	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pourcentage d'inhibition de l'ordre de 78,68% à une concentration de 0,25 µl/ml (Pelures)	Sayah et al., 2013 (Maroc)
Diffusion sur disque	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aureus MR</i> <i>Escherichia coli</i>	Feuilles Fleurs Ecorces 8,0 9,0 7,5 8,0 22,0 7,5 8,0 9,0 7,5 9,0 9,0 -	Trabelsi et al., 2014

Synthèse bibliographique

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> CR <i>Candida albicans</i>	- 8,0 23,0 - 23,0	9,0 8,0 23,0 12,5 25,0	- - 8,0 - 8,0	(Tunisie)
- Diffusion sur disque (mm)	<i>S. aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Feuilles 12,33 ± 1,52 14,33 ± 1,52 8,00 ± 1,00 -		Zeste - 11,33 ± 2,3 - -	Ouedrhiri et al., 2015 (Maroc)
- Contact direct (CMI, V/V)	<i>S. aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 1 2 -		- 2 - -	
- Diffusion sur disque - Contact direct	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ecorces 16,00 ± 1,00 mm 0,40 µl/ml			Djenane, 2015 (Algérie)
- Contact direct CMI	<i>Fusarium sp.</i> <i>F. oxysporu</i> <i>Alternaria sp.</i> <i>Penicillium sp.</i>	Feuilles (% d'inhibition) 100% (C : 0,05 - 1 mg/ml) 100% (C : 0,05 - 1 mg/ml) 100% (C : 0,05 - 1 mg/ml) 100% (C : 0,1 - 1 mg/ml) 0,05 - 1 mg/ml			Hamdani et al., 2015 (Algérie)
- Diffusion sur disque (mm) - Contact direct (% d'inhibition) CMI (mg/ml)	<i>P. italicum</i> (5 souches) <i>P. digitatum</i> (3 souches) <i>P. italicum</i> (5 souches) <i>P. digitatum</i> (3 souches) <i>P. italicum</i> (5 souches) <i>P. digitatum</i> (3 souches)	Feuilles Fleurs Ecorces 11-20 13,6-32 6-10 13-22,6 15-21,6 14-22 12,7-68,4 33,3-68,2 7,9-64,3 25,8-44,9 30,8-49,2 29,5-37,5 12,5-25 12,5-25 12,5-50 12,5 6,25-12,5 12,5			Trabelsi et al., 2016 (Tunisie)
Contact direct	<i>F. oxysporum</i> <i>B. sorokiniana</i> <i>F. avenaceum</i> <i>B. cinerea</i> <i>F. solani</i>	Feuilles : (% d'inhibition) 2 µl/ml 4 µl/ml 60,54 ± 6,83 83,00 ± 3,15 68,47 ± 3,90 81,75 ± 4,97 53,31 ± 4,68 84,00 ± 2,20 38,49 ± 3,01 76,13 ± 1,00 66,49 ± 0,24 82,00 ± 1,44			Métoui et al., 2017 (Tunisie)
- Diffusion sur disque	<i>Fusarium oxysprum</i>	Feuilles (C : 200, 400, 800, 1600, 3200 µl/ml) (% d'inhibition) F1 F2 F3 F4			Bendali et al., 2019

Synthèse bibliographique

- Micro-atmosphère	F1 : en gel F2 : au Tween F3 : au DMSO F4 : à l'acétone	23-54 14-51 86-89 20-89 F1 F2 F3 F4 38-84 10-59 39-69 10-89	(Algérie)
- Diffusion sur disque - Contact direct	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Zeste mm ppm 12,50 ± 0,40 60 9,00 ± 0,47 > 600 10,0 ± 0,47 > 600 9,00 ± 0,47 > 600 12,50 ± 0,40 60	Teneva <i>et al.</i> , 2019 (Bulgarie)
- Contact direct (CMI)	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	Ecorces 20 µg/ml 40 µg/ml 10 µg/ml 10 µg/ml	Farahmadfar <i>et al.</i> 2019 (Iran)

3.6.2.3. Autres activités

Benayad et al. (2021) ont étudié l'activité antidiabétique des extraits et de l'huile essentielle des écorces de *C. aurantium* vis-à-vis de deux enzymes : α -glucosidase (166 et 332 µg/ml) et α -amylase (0,5 et 1 mg/ml). Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle présente le plus faible pouvoir antidiabétique, avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 10 et 20% ; 0 et 5%, respectivement par comparaison au standard, acarbose (70%). En revanche, les extraits se sont révélés très actifs : α -glucosidase (70 - 100%, à 332 µg/ml) et α -amylase (60 - 9%, à 1 mg/ml).

Synthèse bibliographique

Chapitre III : Généralités sur les huiles essentielles

1. Définition

Le terme « huile essentielle » est défini à la fois par l'Agence nationale de sécurité du médicament (ANSM) pour les usages pharmaceutiques et cosmétiques et par l'AFNOR/ISO pour les usages aromatiques et alimentaires (**Larbi *et al.*, 2009**).

L'AFNOR (Association française de la normalisation) définit l'huile essentielle comme : produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques, l'huile est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physique (**Tena *et al.*, 1997**).

Selon la Commission de la Pharmacopée Européenne (2008), l'huile essentielle est défini comme : produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage.

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Larbi *et al.*, 2009**).

Les huiles essentielles, aussi appelées huiles volatiles, sont des métabolites secondaires produits par les plantes aromatiques pour combattre les infections et les parasites, elles sont synthétisées en réponse à des conditions de stress (**Vinatoru *et al.*, 1997**).

2. Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés volatiles, liquides à température ambiante, limpides et rarement colorées, elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques, elles sont peu miscibles à l'eau. Elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques (éther, alcools, hexane, pentane,...) très légèrement dans l'eau. Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.

Leur densité est en grande majorité inférieure à celle de l'eau. Pour autant, quelques huiles essentielles font exception à cette règle. C'est le cas du sassafras, du girofle et de la

Synthèse bibliographique

cannelle. Elles sont incolores ou faiblement colorées en jaune pâle. Mais, il existe des colorées : cannelle (orange)absinthe (vert) et camomille (bleu) (**Bruneton, 2016 ; Seddik, 2010**).

Elles sont huileuses, mais non grasses et s'évaporent facilement. Chaque huile essentielle est unique et se caractérise par une odeur, une couleur, une viscosité et des propriétés spécifiques. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles ont différentes indices chimiques (indice d'acide, d'ester, de carbonyle,...) (**Seddik, 2010**).

3. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites par des cellules végétales spécialisées. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : (**Laurent, 2017**).

- **Les feuilles** : Eucalyptus, citronnelle, laurier noble...
- **Les fleurs** : Camomille, lavande...
- **Les zestes** : Citron, orange, bergamote...
- **Le bois** : Bois de rose, santal...
- **L'écorce** : Cannelle...
- **La racine** : Vétiver...
- **Les fruits** : Anis, badiane...
- **Les rhizomes** : Curcuma, gingembre...
- **Les graines** : Muscade...

Si tous les organes d'une même espèce renferme une huile essentielle, la composition de celle-ci peut varier selon sa localisation (**Bruneton, 1993**).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. On retrouve par exemple :

- **Les cellules à huiles essentielles** : Chez les Lauracées et les Zingiberacées ;
- **Les poils sécréteurs** : Chez les Lamiacées ;
- **Les poches sécrétrices** : Chez les Myrtacées et les Rutacées ;

Synthèse bibliographique

- **Les canaux sécréteurs** : Chez les Apiacées et les Astéracées (**Laurent, 2017**).

Ainsi, dans le cas de l'oranger amer, le principe frais du fruit (zeste) fournit l'huile essentielle d'orange amer. La fleur fournit l'essence de néroli et l'hydrodistillation des feuilles et des rameaux conduit à l'essence de petit grain bigaradier. La composition de ces trois huiles essentielles est différente (**Bruneton, 1993**).

4. Fonction des huiles essentielles dans la plante

L'existence des huiles essentielles dans les végétaux même si leur fonction n'est pas toujours précisément connue, répondrait aux besoins d'une protection spécifique des espèces en fonction de leur environnement.

- ✚ Les plantes étant immobiles, elles auraient développé les huiles essentielles pour constituer une défense chimique contre les micro-organismes. Elles repoussent les parasites et protègent la plante de certaines maladies grâce à leurs propriétés antifongiques, antivirales, antibactériennes ou insectifuges ;
- ✚ Elles se défendent également contre les autres plantes. Par exemple, *Erica cinerea*, la bruyère cendrée diffuse des substances télotoxiques afin d'éviter la pousse d'autres végétaux à proximité (une lande de bruyère ne comporte aucune autre végétation).
- ✚ Elles attirent au contraire les insectes pollinisateurs (fleurs parfumées, fécondées par certains insectes butineurs) et permettent ainsi à la plante d'assurer sa reproduction ;
- ✚ Elles aideraient à guérir les blessures et les attaques diverses auxquelles sont soumis les plantes ;
- ✚ Elles remplissent une action de protection contre les brûlures solaires ;
- ✚ Elles pourraient permettre aux plantes de communiquer entre elles. Par exemple, une plante attaquée par un herbivore pourrait envoyer des signaux d'alerte (substances volatiles comme l'hexénal ou l'ocimène) aux autres plantes du secteur, pour lesquelles déclenchent des mécanismes de défense ;
- ✚ Elles représentent une réserve d'énergie mobilisable (en cas de conditions climatiques défavorables).

Synthèse bibliographique

5. Composition chimique

Jusqu'à présent, plus de 3 000 constituants ont été isolés à partir des huiles essentielles (Teuscher *et al.*, 2005). On distingue deux classes, en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes (Buchanan *et al.*, 2000).

5.1. Terpénoïdes : Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène (Bakkali *et al.*, 2008).

5.2. Phénylpropanoïdes : Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les composés terpéniques.

Partie expérimentale

Partie expérimentale

Dans ce présent travail, nous nous sommes proposés d'une part, de déterminer les rendements en huile essentielle de plusieurs échantillons récoltés sur des pieds individuels et d'autre part, d'évaluer les activités biologiques (antioxydante et antifongique) de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* récolté dans la région de Tlemcen.

1. Matériel végétal

La cueillette des fruits du bigradier a été effectuée au mois de février 2022, dans deux stations : El Fehoul et Maghnia, situées dans la wilaya de Tlemcen (**Figure 9**). L'échantillonnage a été réalisé sur 12 pieds individuels dans chaque station. L'identification de cette plante a été réalisée par le Dr F. Hassani (Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes, université de Tlemcen).

2. Situation géographique et période de récolte des plantes

Les stations d'étude sont limitées par les coordonnées (longitude, altitude) suivantes :

- Station d'El Fehoul : Latitude : 35,1178 ; Longitude : -1,33417 35° 7' 4" Nord, 1° 20' 3" Ouest
- station Maghnia : Latitude : 34° 51' 42" nord 1° 43' 50" ouest.

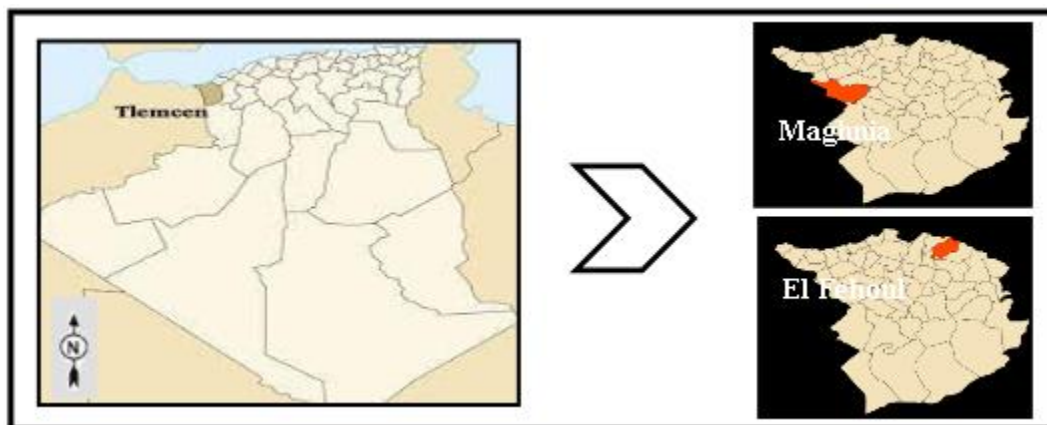


Figure 9 : Situation géographique des lieux de prélèvement de *C. aurantium* dans la région de Tlemcen

3. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles du zeste de *Citrus aurantium* (**Photo 3**) a été effectuée par hydrodistillation : une simple hydrodistillation (**Photo 4**) et une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger (**Photo 5**), pendant une durée de 2 heures ou le matériel végétal est en contact direct avec le solvant (eau).



Photo 3 : Zestes de l'orange amère



Photo 4 : Dispositif d'extraction par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger



Photo 5 : Dispositif d'extraction par simple hydrodistillation

Dans un ballon rempli d'eau, on a déposé les épicarpes des fruits frais à extraire puis on les a portées à ébullition. La vapeur d'eau monte dans la colonne jusqu'à atteindre le réfrigérant où elle se transforme en liquide séparant les deux phases, l'huile flotte sur l'eau qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé.

Pour éviter leur dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière, les huiles essentielles (**Photo 6**) étaient conservées dans des piluliers en verre à $4 \pm 1^\circ \text{C}$ à l'abri de la lumière.



Photo 6 : Huile essentielle obtenue par hydrodistillation (simple et avec un appareil de type Clevenger, respectivement)

4. Calcul des rendements en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matériel végétal frais à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt \%} = \text{M/M}_0 \times 100$$

Rdt% : Rendement en huile essentielle

M : Masse d'huile essentielle récupéré (g)

M₀ : Masse de matière végétale à traiter (g)

5. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

Utilisées depuis toujours par toutes les civilisations, les plantes ont apporté aide et réconfort aux maux les plus divers. D'abord, on se servit des plantes entières pour apporter soulagement et bien-être (sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions), ensuite l'homme s'est intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

A juste titre, les huiles essentielles ont prouvé leur valeur inestimable pour la santé, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniène et al., 2000**). Ainsi, elles sont considérées actuellement comme des alternatifs très prometteurs aux différents antibiotiques pour le traitement de diverses maladies infectieuses, mais aussi aux agents chimiques pour la conservation des denrées alimentaires, ou encore pour les produits cosmétiques (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Dans ce travail, nous avons étudié le pouvoir antioxydant et antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus Aurantium* (orange amère). Ainsi, pour avoir une quantité suffisante afin de pouvoir réaliser les activités biologiques, nous avons mélangé les huiles essentielles des différents échantillons.

5.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et bon marché et que leurs doses autorisées sont largement limitées pour éviter tout problème de toxicité, on a assisté depuis les années 1980 à un engouement pour les produits naturels, et au développement d'extraits végétaux à usage antioxydant, qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies (**De-Reynal et Multon, 2009**)

Partie expérimentale

Un antioxydant est toute substance qui à faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat, soit en piégeant les radicaux libres en captant l'électron célibataire ou en les transformant en molécule ou en ion stable (Halliwell, 1990).

L'activité antioxydante des plantes médicinales est évaluée par plusieurs méthodes : soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydro peroxydes) par des techniques photométriques ou par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres.

Dans cette partie, l'activité antioxydante a été évaluée par la mesure de la capacité de réduction d'un radical libre synthétique : le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

5.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl-picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivante (Figure 10) :

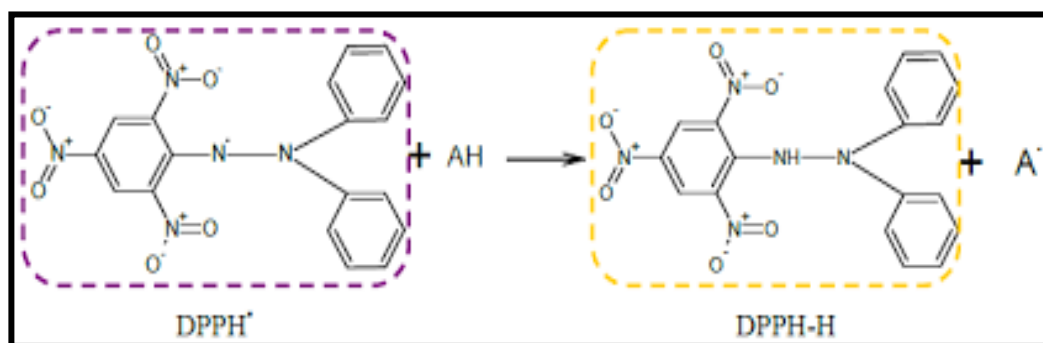


Figure 10 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényl-picryl-hydrazine (jaune) (Brand-William *et al.*, 1995).

Le protocole utilisé repose sur la méthode expérimentale rapportée par Kouame *et al.*, en 2017. 2,5ml de diverses concentrations (256, 128, 64, 32, 16, 8 mg/ml) d'huiles essentielles préparées dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés à 1 ml d'une solution éthanoïque de DPPH à 0,03 mg/ml. Pour chaque concentration, un blanc a été préparé. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 2,5 ml d'éthanol absolu avec 1 ml d'une solution éthanoïque de DPPH.

Partie expérimentale

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH en pourcentage (%) a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Avec : $A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle (nm) ; A_{test} : Absorbance du test effectué (nm)

La concentration de l'huile essentielle nécessaire pour la réduction de 50% de la concentration initiale du DPPH* (CI₅₀), a été calculée à partir du graphique tracé en pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle.

5.2. Activité Antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

La recherche de l'activité antimicrobienne et antifongique consiste à estimer l'inhibition de croissance des micro-organismes soumis à l'HE d'orange amer. La détermination du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Citrus clementina* est réalisée vis-à-vis de trois champignons filamenteux en appliquant la méthode de diffusion sur disque et la méthode de contact direct en milieu gélosé.

5.2.1. Provenance des germes

Les souches pathogènes (**Tableau 7**) utilisées ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires, leurs résistances courantes à différents antifongiques et pour leur pathogénicité.

Tableau 7 : Origines des souches fongiques utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

<i>Champignons (Moisissures)</i>	Code	Origine
<i>Aspergillus flavus</i>	MNHN 994294	MNHN
<i>Aspergillus fumigatus</i>	MNHN 566	MNHN
<i>Fusarium oxysporum</i>	MNHN 963917	MNHN

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris)

5.2.2. Mise en culture des souches

Une préculture des souches microbiennes est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. Les suspensions de spores de moisissures, (préparées à partir d'une

culture de 7 jours ayant atteint le stade de sporulation sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) sont ajustées à 10^6 spores/ml, ce qui correspond à une transmittance de 68-82% ($\lambda = 530$ nm) (Pfaller *et al.*, 1998).

5.2.3. Méthodes d'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antifongique des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (Fernandez et Chemat, 2012).

Les techniques choisies pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, portaient d'une part sur la caractérisation du pouvoir antimicrobien et d'autre part, à quantifier ce pouvoir en terme de concentration minimale inhibitrice. Dans un premier temps, nous avons testé les huiles essentielles vis-à-vis des souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide.

5.2.3.1. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode qualitative teste la sensibilité ou la résistance des micro-organismes par contact direct avec les huiles essentielles. C'est une méthode qui est généralement utilisée pour la présélection de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, car le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité des huiles essentielles mais une indication qualitative de la sensibilité ou de la résistance des germes.

Un disque de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné de 15 μ l d'huile essentielle et de 5 μ l de DMSO est déposé sur la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri (3 disques par boîte) préalablement ensemencées en surface en nappe avec 1 ml de suspension (10^4 spores/ml) pendant 10 à 15 min. L'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration.

Le milieu de culture utilisé est le milieu PDA (Potato Dextrose Agar).

Les boîtes sont laissées 1 h à température ambiante puis retournées et incubées à 25 °C pendant 3 à 5 jours.

Les germes se développent et sont visibles à l'œil nu pendant l'incubation de sorte qu'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance microbienne, dont le diamètre de ce dernier dépend de la sensibilité aux huiles essentielles et est mesuré en mm, disque inclus.

En parallèle, la sensibilité des souches microbiennes, vis-à-vis de : fluconazole (FLU. 25 µg/disque) et l'amphotéricine B (AMB 20 U/disque) a été testée comme contrôle positif et du DMSO (20 µl/disque) comme contrôle négatif.

5.2.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé

En bactériologie médicale, les souches microbiennes sont caractérisées par rapport à leur résistance ou à leur sensibilité aux antimicrobiens par le biais de deux valeurs : le diamètre d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI est la plus petite concentration d'antimicrobien ou d'extrait capable d'inhiber la croissance microbienne. La CMI est la plus faible concentration requise pour l'inhibition complète de l'organisme test en 24 ou 48 heures d'incubation (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Pour déterminer les CMI des huiles essentielles vis-à-vis des souches sensibles, nous avons utilisé la méthode de contact direct en milieu gélosé. L'huile essentielle est déposée dans des boîtes de Pétri afin d'effectuer une gamme de concentration de 4 à 6 µl/ml dans le milieu PDA pour les champignons filamenteux, avec pour chaque concentration, son équivalent en DMSO. Le mélange est alors homogénéisé et ensuite refroidi. Après une durée d'incubation de 3 à 5 jours à 25 °C, la lecture des résultats se fait par la présence ou l'absence de la croissance microbienne.

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

1. Rendement en huile essentielle des différents échantillons

Il existe plusieurs techniques d'extraction des substances actives présentes dans les plantes. L'extraction par hydrodistillation est l'un des procédés le plus simple et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau.

Nous avons prélevé 24 échantillons au mois de février ; 12 échantillons à la station de Maghnia et 12 échantillons à la station d'El Fehoul. L'extraction de l'huile essentielle de l'épicarpe de *Citrus aurantium* a été réalisée par simple hydrodistillation et par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. Les huiles essentielles obtenues sont incolores avec un aspect liquide et caractérisées par une forte odeur.

Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale fraîche et sont représentés dans les figures ci-dessous :

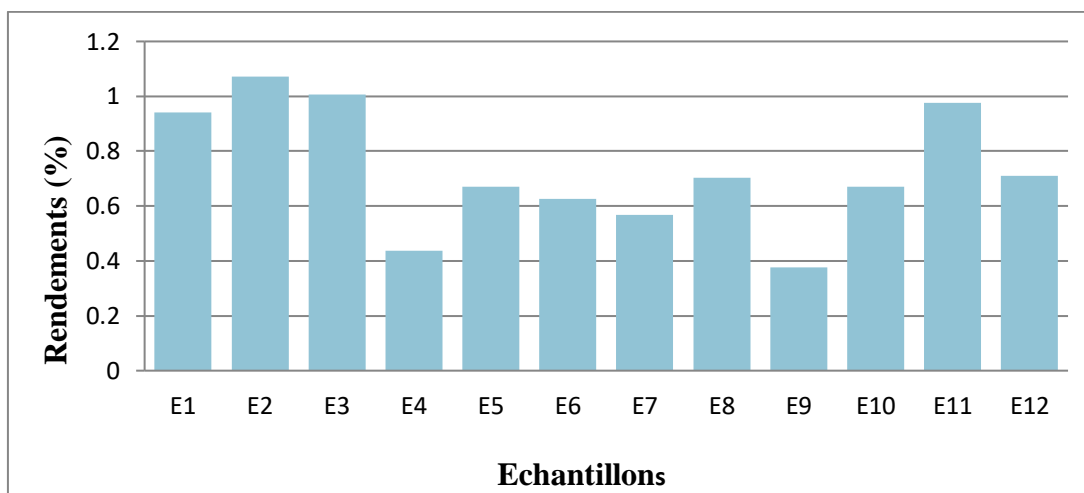


Figure 11 : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* récolté dans la station de Maghnia

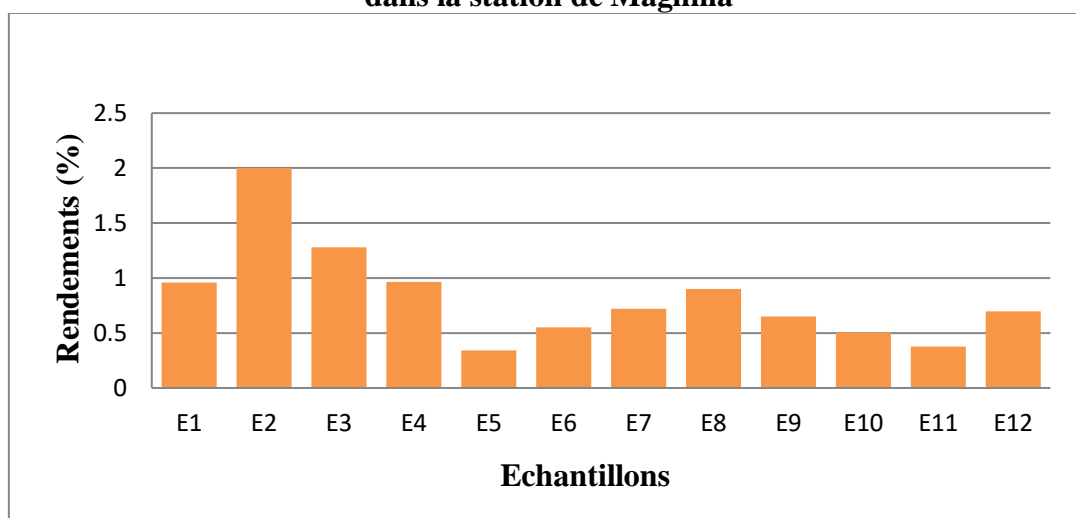


Figure 12 : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* récolté dans la station d'El Fehoul

Résultats et discussion

Selon les figures 11, 12 et 13, nous avons remarqué que le zeste du bigaradier est riche en huile essentielle. Les rendements sont très variables. Cette variabilité existe entre les échantillons récoltés dans la même station d'étude et entre les deux stations d'échantillonnage. Les teneurs varient entre 0,43% et 1,07% dans la station de Maghnia, et entre 0,34% et 2,0% dans la station d'El Fehoul. Cependant, les échantillons de la deuxième station sont plus riches en huile essentielle.

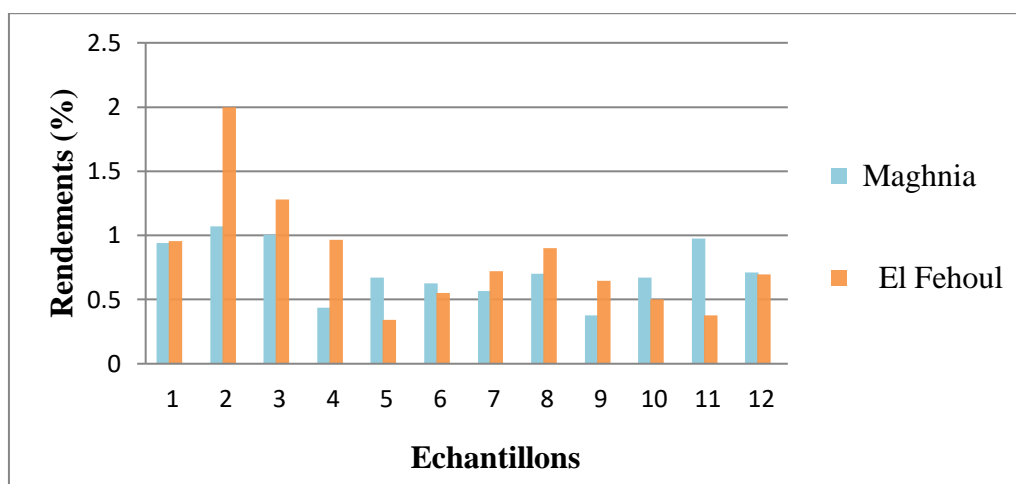


Figure 13 : Comparaison des rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* récolté dans les deux stations d'étude

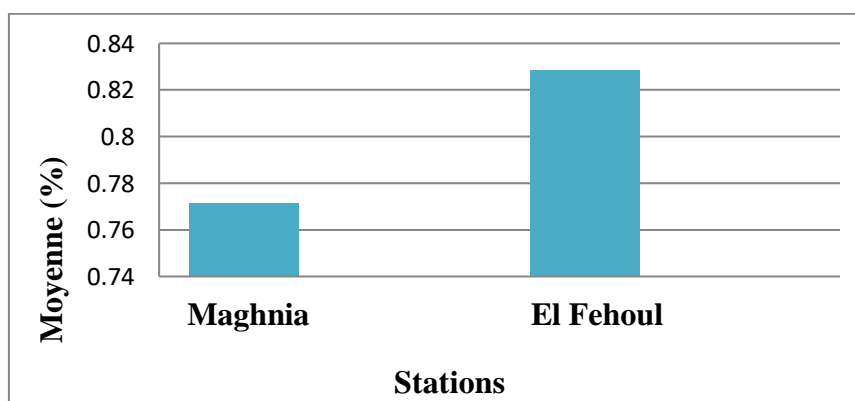


Figure 14 : Moyenne des rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* récolté dans les deux stations d'étude

Par ailleurs, nous avons constaté également que la différence des moyennes des rendements entre les deux stations d'étude est importante (0,72% contre 0,82% ; respectivement). Cependant, les échantillons de la station d'El Fehoul sont plus riches en huile essentielle. Cette variabilité est due probablement aux caractéristiques pédologiques.

Par comparaison de nos résultats avec ceux des travaux antérieurs, nous avons constaté que les rendements en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* obtenu à la station de

Résultats et discussion

Maghnia (0,43% - 1,07%) sont comparables à ceux rapportés par : **Njoroge *et al.*, 1994 ; Njoroge *et al.*, (2003) ; Boussaada et Chemli (2006) ; Bourgou *et al.* (2011) ; Sanei-Dehkordi *et al.* (2012) ; Costa *et al.*, 2013 ; Trabelsi *et al.*, 2014 ; Djenane (2015) ; Zerrad *et al.* (2017) ; Farahmadfar *et al.* (2019) ; Benayad *et al.*, (2021)** qui avancent des rendements variant entre 0,46 et 1,17% pour des échantillons provenant des régions suivantes : Japon, Tunisie, Iran, Algérie, Tunisie et Maroc. D'autres travaux rapportent des rendements en huile essentielle comparables à ceux obtenus dans la station d'El Fehoul (0,34 - 2,0%). En effet, **Khaled *et al.* (2013)** rapportent un rendement faible de l'ordre de 0,356% pour un échantillon récolté en Tunisie, semblable aux nôtres. De même, d'autres auteurs avancent des teneurs en HE identiques aux nôtres, de l'ordre de : 1,24% (**Hosni *et al.* (2010)**), entre 0,8 et 1,3% (**Boussaada et Chemli, 2007 ; Boussaada *et al.*, 2007**), 1,35% (**Bnina *et al.*, 2019**), 1,67 (**Sarrou *et al.*, 2013**), 1,8% et 1,85%, respectivement (**Melliou *et al.*, 2009 ; Ouedrhiri *et al.*, 2015**) et 1,95% (**Azadi *et al.*, 2012**).

En revanche, selon, une étude rapportée par **Oulebsir-Mohandkaci *et al.* en 2015** l'écorce de *Citrus aurantium* originaire d'Algérie est très riche en huile essentielle, avec un rendement largement supérieure à nos teneurs, de l'ordre 9,1%. De même, **Bendaha *et al.*, en 2016**, ont obtenus des teneurs élevées variant entre 1,1 et 4,5%. Par contre, **Sayah *et al.* en 2013 ; Essadik *et al.*, en 2015** rapportent des rendements très faibles de l'ordre de 0,27% et 0,3%, respectivement.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les rendements en huiles essentielles varient selon diverses conditions à savoir : l'environnement, l'origine géographique et la période de récolte.

2. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

Cette partie concerne l'activité antioxydante et l'activité antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*. Nous avons regroupé les huiles des différents échantillons de la même station, afin de disposer de quantités suffisantes pour pouvoir effectuer la totalité des tests. Les échantillons « communelles » sont les suivants : E1 et E2 (HS et HC, respectivement, Station de Maghnia) ; E3 et E4 (HS et HC, respectivement, Station d'El Fehoul).

2.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

Dans cette étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante de nos échantillons a été réalisée par le test de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH') en utilisant l'éthanol comme solvant. Cette activité a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre

Résultats et discussion

en suivant la réduction de radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517 nm.

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

Pour ce test, une gamme de concentration a été préparée pour l'échantillon d'huile, les valeurs des densités optiques obtenues montrent une augmentation proportionnelle du pouvoir réducteur en fonction des concentrations. En effet, l'activité anti-radicalaire des différents extraits augmente avec l'augmentation de la concentration (Ghasmi *et al.*, 2009).

Les résultats du pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle des différents échantillons (E1, E2, E3 et E4) sont reportés sur les figures 15, 16, 17 et 18 respectivement.

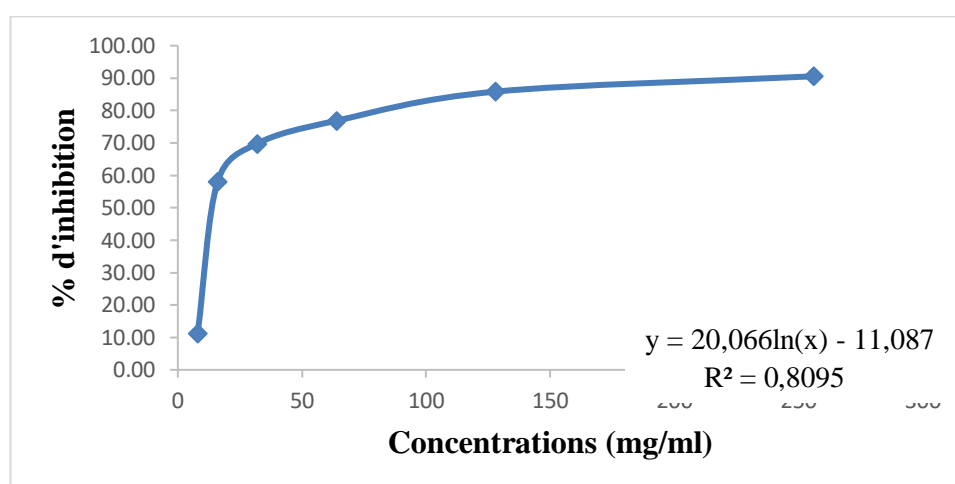


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (E1)

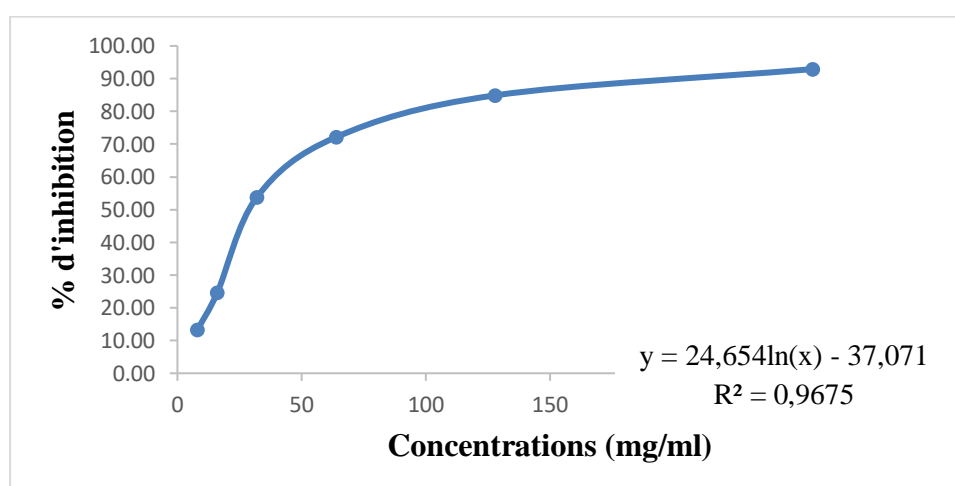


Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (E2)

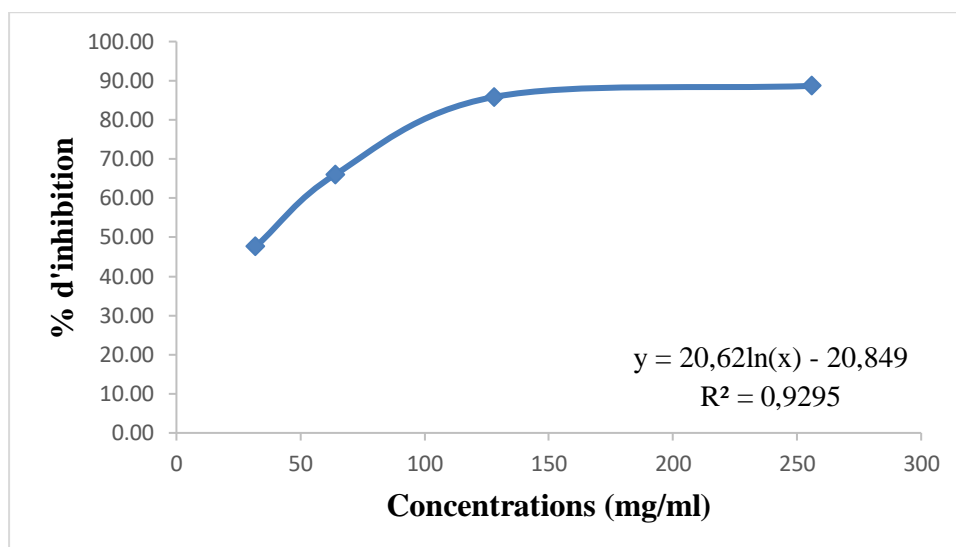


Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (E3)

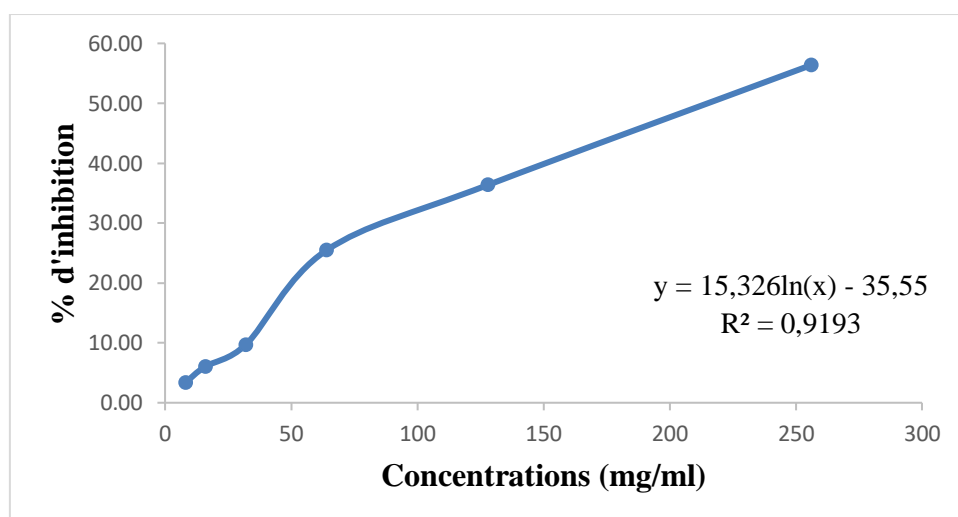


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (E4)

Les huiles essentielles de trois échantillons (E1, E2 et E3) ont montré une activité antioxydante importante et comparable vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH avec des valeurs de l'ordre de 90,57%, 92,92 et 88,68%, respectivement à une concentration de 256 mg/ml. Par contre l'échantillon E4 s'est révélé moins actif avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 56,36% à la même concentration.

Nous avons constaté également une activité anti-radicalaire comparable pour les échantillons E1, E2 et E3. En effet, à la même concentration de l'ordre de 128 mg/ml, nous

Résultats et discussion

avons obtenu un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 85,85%, 84,91% et 85,85%, respectivement.

Par comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, nous avons constaté que nos échantillons présentent une activité antioxydante moins importante. En effet, **Teneva et al.** en 2019 rapportent un fort pouvoir antioxydant, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 88% à une concentration de 1,0 mg/ml.

En revanche, **Sarrou et al.**, en 2013 rapportent une très faible activité pour les les écorces. En effet, le pourcentage d'inhibition obtenu par le test de DPPH• est de l'ordre de 19,29%, à une concentration de 54 mg/ml.

Les valeurs des CI_{50} , présentées dans le tableau 8, nous permettent de comparer l'efficacité des huiles essentielles. Nous rappelons que plus la valeur de la CI_{50} est faible plus l'huile essentielle possède un potentiel pour le piégeage des radicaux libres.

Tableau 8 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle du zeste de *C. aurantium* des quatre échantillons exprimée en CI_{50}

Echantillons	CI_{50} (mg/ml)
E1	20,99 ± 2,12
E2	34,18 ± 3,79
E3	29,91 ± 7,86
E4	265,61 ± 41,60
Acide ascorbique	0,02 ± 0,002

Ces résultats confirment ceux obtenus pour les pourcentages d'inhibition. Ainsi, l'E1, E2 et E3 sont plus actif avec des CI_{50} de l'ordre de 20,99 ± 2,12 mg/ml, 34,18 ± 3,79 mg/ml, 29,91 ± 7,87 mg/ml, respectivement, En revanche, l'échantillon E4 présente un faible pouvoir antioxydant avec une CI_{50} de l'ordre de 265,61 ± 41,60 mg/ml. Cependant, tous les échantillons se sont avérés nettement moins actif par rapport au composé de référence à savoir, l'acide ascorbique.

Par comparaison avec la littérature, nos résultats sont comparables à ceux obtenus par **Ouedrhiri et al.** en 2015 et **Farahmadfar et al.** en 2019. En effet, ils ont obtenu par le test de DPPH, une CI_{50} de l'ordre de 26,99 mg/ml et 29,51 mg/ml pour le zeste de *C. aurantium* récolté au Maroc et en Iran, respectivement. En revanche, en 2014, **Trabelsi et al.**, ont

Résultats et discussion

étudié l'activité antioxydante des HEs des feuilles, des fleurs et des écorces du bigaradier récoltés en Tunisie, par deux méthodes : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), le piégeage du radical-cation ABTS^{•+} (l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Les résultats obtenus du test DPPH ont montré que les écorces sont les plus actifs, avec des CI₅₀ de l'ordre de 800 ± 0,11 µg/ml, mais qui reste très faible par comparaison avec celle du contrôle positif (Trolox : CI₅₀ = 2,08 ± 0,08 µg/ml).

2.2. Activité antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

Le pouvoir antifongique de l'huile essentielle du zeste des trois échantillons de *C. aurantium* a été testé vis-à-vis de trois champignons filamenteux en utilisant la méthode de diffusion sur disque et la méthode de contact direct en milieu gélosé.

2.2.1. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle du zeste des trois échantillons de *Citrus aurantium* et l'antibio-résistance de chaque souche sont représentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (E1, E2 et E3) de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* relatives aux souches fongiques selon la méthode de disque

Souches fongiques	Contrôles positifs		Huile essentielle (15 µl/disque)			Contrôle négatif DMSO (20 µl/disque)
	FLU (25 µg/disque)	AMB (20 U/disque)	Echantillon E1 (V1 HS)	Echantillon E2 (V1 HC)	Echantillon E3 (V2 HS)	
<i>Aspergillus flavus</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6,0 ± 0,0	13,3 ± 2,5	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0

FLU : Fluconazole AMB : Amphotéricine B

Un microorganisme (bactérie, levure, champignon) est considéré sensible aux antibiotiques et aux extraits si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Duraffourd et Lapraz, 2002 ; Moreira *et al.*, 2005).

Ainsi selon le tableau 8, les trois échantillons de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* testés ne possèdent aucune activité antifongique vis-à-vis de toutes les souches fongiques testés, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 6,0 mm.

Résultats et discussion

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Trabelsi et al.**, en **2016**. En effet, ils rapportent un faible pouvoir antifongique, avec des diamètres d'inhibition variant entre 6 et 10 mm pour l'huile essentielle des écorces de *C. aurantium*, vis-à-vis de *Penicillium italicum*. Par contre, ces mêmes auteurs avancent que cette huile essentielle possède une bonne activité voire modérée vis-à-vis de *Penicillium digitatum*, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 14 et 22 mm. De même, **Bnina et al.** en **2019** rapportent une activité antimicrobienne de l'huile essentielle des écorces de *Citrus aurantium* contre un panel de micro-organismes (bactéries, moisissures et levures), avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 6 et 10 mm.

2.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé

L'évaluation d'un agent antimicrobien est généralement effectuée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits testés. La CMI correspond à la plus faible concentration en agent actif capable d'inhiber totalement la croissance d'un micro-organisme donné. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* relatives aux souches fongiques testés

Champignons filamenteux	Echantillon E1 (V1 HC) (µl/ml)	Echantillon E2 (V1 HS) (µl/ml)	Echantillon E3 (V2 HS) (µl/ml)
<i>Aspergillus flavus</i>	6	> 6	> 6
<i>Fusarium oxysporum</i>	> 6	> 6	> 6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	> 6	> 6	> 6

Selon le tableau 9, l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* possède s'est montré inactive vis-à-vis des souches fongiques testées (**Photo 7**), à l'exception d'*Aspergillus flavus* (**Photo 8**) qui s'est avéré sensible à cette huile essentielle, mais avec une CMI très importante de l'ordre de 6 µl/ml.

De même, **Trabelsi et al.**, en **2016** rapportent une faible activité de l'huile essentielle de des écorces de *Citrus aurantium* contre *Penicillium italicum* et *Penicillium digitatum*. En effet, ils ont obtenu des CMI très importantes variant entre 12,5 et 50 mg/ml.



Photo 7 : Résistance de *Fusarium oxysporum* à l'échantillon E1 de l'huile essentielle de *C. aurantium* à la concentration de 6 µl/ml



Photo 8 : Sensibilité d'*Aspergillus flavus* à l'échantillon E1 de l'huile essentielle de *C. aurantium* à la concentration de 6 µl/ml

Conclusion

Conclusion

Dans le but de la valorisation des plantes aromatiques médicinales de la famille de Rutacées, nous nous sommes proposés d'étudier d'une part les rendements en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* récolté dans deux stations dans la région de Tlemcen, et d'autre part, les propriétés biologiques (antioxydante, antifongique) de l'huile essentielle de cette espèce végétale.

Nous avons prélevé 24 échantillons : 12 échantillons dans la station de Maghnia et 12 échantillons dans la station d'El Fehoul, sur des pieds individuels.

Dans la première étape, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles par simple hydrodistillation et par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. L'épicarpe des bigaradiers est riche en huile essentielle, avec des rendements très variables, allant de 0,43 à 1,07% pour la station de Maghnia, et entre 0,34 et 2,0% pour la station d'El Fehoul. Cependant, la moyenne des rendements dans la station de Maghnia (0,72%) est moins importante en comparaison avec celle de la station d'El Fehoul (0,82%).

Ensuite, nous avons regroupé l'huile essentielle des échantillons de la même station pour avoir suffisamment d'huile essentielle et pouvoir effectuer les activités biologiques. Ainsi, nous avons constitué quatre échantillons « communelle » : E1 et E2 (HS et HC, respectivement, Station de Maghnia) ; E3 et E4 (HS et HC, respectivement, Station d'El Fehoul).

Dans un second temps, nous avons évalué les activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* : la capacité antioxydante par le test de DPPH' et l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque et par la méthode du contact direct. Les échantillons E1, E2 et E3 se sont montrés les plus actifs, avec des CI_{50} de l'ordre de $20,99 \pm 2,12$ mg/ml, $34,18 \pm 3,79$ mg/ml, $29,91 \pm 7,86$ mg/ml, respectivement. En revanche, l'échantillon E4 présente un faible pouvoir antioxydant avec une CI_{50} de l'ordre de $265,61 \pm 41,60$ mg/ml. Cependant, tous les échantillons se sont avérés nettement moins actifs par rapport au composé de référence à savoir, l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,02 \pm 0,001$ mg/ml).

Enfin, l'activité antifongique de l'huile essentielle de trois échantillons (E1, E2 et E3) a été testée vis-à-vis de trois souches fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*). Le pouvoir antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* est faible voire nulle. Cependant, *Aspergillus flavus* s'est montré le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon E1 avec une CMI élevée de l'ordre de $6 \mu\text{l/ml}$. Cependant, cette sensibilité reste très faible.

Conclusion

Toutefois, il serait intéressant de compléter cette étude :

- En déterminant les compositions chimiques des huiles essentielles de *Citrus aurantium* des différents échantillons ;
- En effectuant une analyse statistique de la composition des différents échantillons afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique ;
- En testant d'autres activités biologiques tels que l'activité anti-inflammatoire, l'activité antibactérienne.
- En étudiant l'activité antioxydante par d'autres tests : FRAP, ...

Il serait intéressant aussi d'isoler les molécules bioactives pour la recherche d'un remède naturel et trouver de nouvelles applications thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Aazza, S., Lyoussi, B., Miguel, M.G. (2011).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their Major compounds. *Molecules*, 16, 7672-7690.
- **Abderrezak, M.K., Abaza, I., Aburjai, T., Kabouche, A., Kabouche, Z. (2014).** Comparative compositions of essential oils of *Citrus aurantium* growing in different soils. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5, 1913-1918.
- **Abeyasinghe, D.C., Li, X., Sun, C.H., Zhang, W., Zhou, C.H. (2007).** "Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food chemistry*, 104(4), 1338-1344.
- **Adjdir, Z., Bensnoui A. (2009).** Bilan d'une Agrumeraie, cas de la ferme pilote Moussadek Abdalkader (Remchi Wilaya de Tlemcen). Mémoire d'ingénieur, Université de Tlemcen, 81p.
- **AFNOR. (1986).** Recueil des normes françaises : Les huiles essentielles. Ed. AFNOR, Tour Europe, Paris, 57p.
- **AFNOR. (2000).** Association français de normalisation française : huile essentielle. Ed., AFNOR, Paris.
- **AFNOR. (2000).** Recueil de Normes: Les Huiles Essentielles. Tome 1, Echantillonnage et Méthodes d'Analyse, Paris, 440p.
- **Ainane, A., Khammour, F., Talbi, M., Charaf, S., Elabboubi, M., El Kouali, M., Bricha, M.R., Abba, El-H., Cherroud, S., Ainane, T. (2018).** Chemical characterizations of the aromatic compositions of two *Citrus* species: *Citrus aurantium* and *Citrus reticulata*. *MOJ Drug Design Development & Therapy*, 2(3), 80-83.
- **Anonyme (2013).** Site : <http://blogdesagrumes.blogspot.com/2012/11/fusariose-des-agrumes-pourriture-des.html>
- **Anonyme (2012).** légère base de la production agrumicole en 2011/2012.
- **Aubert, M., Vullin G. (1997).** Pépinière et plantation d'agrumes. Ed. CIRAD, Paris, 184p.
- **Azadi, B., Nickavar, B., Amin, G. (2012).** Volatile constituents of the peel and leaf of *Citrus aurantium* L. cultivated in the north of Iran. *J. Pharm. Health Sci.*, 1, 37-41.
- **Bachés, B., Bachés, M. (2012).** Agrumes : comment les choisir et les cultiver facilement. Editeur : Ulmer, Paris, 96p.
- **Bakkali, F., Averbeck S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 446-475.

Références bibliographiques

- **Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. (2000).** Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, 33(9), 785-791.
- **Belakhdar, J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Ibis presse, Paris, France, 764p.
- **Benayad, O., Bouhrim, M., Tiji, S., Kharchoufa, L., Addi, M., Drouet, S., Hano, C., Lorenzo, J.M., Bedaha, H., Bnouham, M., Mimouni, M. (2021).** Phytochemical Profil, α -glycosidase, and α -amylase inhibition potential and toxicity Evaluation of Extracts from *Citrus Aurantium* (L.) peel, a Valuable by-Product from Northeastern Morocco. *Biomolecules*, 11, 1555.
- **Bendaha, H., Bouchal, B., El Mounsi, I., Salhi, A., Berrabeh, M., El Bellaoui, M., Mimouni, M. (2016).** Chemical composition, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of peel essential oils of *Citrus aurantium* grown in Eastern Morocco. *Der Pharm. Lett.*, 8, 239-245.
- **Bendali, A., Oulebsir, C., El Hadj, D., Djazouli, Z.E. (2019).** Impact De La Formulation Sur Le Potentiel Antifongique De L'huile Essentielle Du Bigaradier *Citrus Aurantium* L. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1677-1693.
- **Bnina, E., Hajlaoui, H., Chaieb, I., Daami-Remadi, M., Ben Said, M., Ben Jannet, H. (2019).** Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the tunisian *Citrus aurantium* essential oils. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(2), 81-92.
- **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.
- **Bonaccorsi, I., Sciarrone, D., Schipilliti, L., Trozzi, A., Fakhry, H.A., Dugo G. (2011).** Composition of Egyptian Neroli Oil. *Natural Product Communications*, 6(7), 1009-1014.
- **Boullard, B. (2001).** Plantes du monde - réalités et croyances. Ed. Estem, Paris, France, 636p.
- **Bourgou, S., Rahali, F. Z., Ourghemmi, I., Saïdani Tounsi, M. (2012).** Changes of peel essential oil composition of four Tunisian *Citrus* during fruit maturation. *The Scientific World Journal*, doi:10.1100/2012/528593.
- **Bouroukaa, A. (2012).** Etude biochimique de l'adultération du jus de fruits. Thèse, Université de Carthage, 89p.
- **Boussaada, O., Chemli, R. (2007).** Seasonal variation of essential oil composition of *Citrus aurantium* L. Var. *amara*. *Journal of Essential oil Bearing Plants*, 10, 109-120.

Références bibliographiques

- **Boussaada, O., Chemli, R. (2006).** Chemical composition of essential oils from flowers, leaves and peel of *Citrus aurantium* L. var. *amara* from Tunisia. *J. Essent. Oil Bear.*, 9, 133-139.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier Tec. et doc., 2^{ème} Edition, Paris, 915p.
- **Bruneton, J. (2016).** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, Tec. et Doc., 5^{ème} édition, Paris, 1504p.
- **Buchanan, B.B., Gruissem, W., Jones, R.L. (2000).** Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, 1367p.
- **Carvalho-Freitas, M.I., Costa, M. (2002).** Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L. *Biol Pharmaceut Bull*, 12, 1629-33.
- **Cassan, A., Escartin, I., Boos, A. (2008).** Guide des agrumes. Ed. l'institut klorane, fondation d'entreprise pour la protection et la bonne utilisation de patrimoine végétal. Lavour, France, 20p.
- **Cerdagne, I. (2004).** L'oranger amer : *Citrus aurantium* var. *amara* Link". Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Limoges, France, 218p.
- **Chialva, F., Doglia, G. (1990).** Essential Oil Constituents of Chinotto (*Citrus aurantium* L. var. *myrtifolia* Guill.). *J. Essent. Oil. Res.*, 2, 33-35.
- **Colombo, A. (2004).** La culture des agrumes. Ed. DE VECCHI S.A., Paris, 142p.
- **Costa, C.A.R.A., Cury, T.C., Cassettari, B.O., Takahira, R.K., Flório, J.C., Costa, M. (2013).** *Citrus aurantium* L. essential oil exhibits anxiolytic-like activity mediated by 5-HT_{1A}-receptors and reduces cholesterol after repeated oral treatment. *BMC Complementary Altern. Med.*, 13, 1-10.
- **De-Reynal, B., Multon, J.L. (2009).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 4^{ème} édition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 702p.
- **Djenane, D. (2015).** Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of Algerian *Citrus* essential oils and their application in *Sardina pilchardus*. *Foods*, 4, 208-228.
- **Duccio, R.L.C., Guizzardi, M., Biondi, D.M., Renda, A., Ruberto, G. (1998).** Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 73-79.

Références bibliographiques

- **Dugo, G., Bonaccorsi, I., Sciarrone, D., Costa, R., Dugo, P., Mondell, L., Santi, L., Fakhry, H, A. (2011).** Characterization of Oils from the Fruits, Leaves and Flowers of the Bitter Orange Tree. *J. Essent. Oil. Res.*, 23, 45-59.
- **Dugo, G., Verzera, A., d'Alcontres, H.S., Cotroneo, A., Ficarra, R. (1993).** On the Genuineness of Citrus Essential oils. Part XLI. Italian bitter orange essential oil: Composition and detection of contamination and additions of oils and terpenes of sweet orange and of lemon. *Flavour and Fragrance journal*, 8, 25-33.
- **Ellouze, I., Abderrabba, M. (2014).** Kinetics of extraction of *Citrus aurantium* essential oil by hydrodistillation: influence on the yield and the chemical composition. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5(3), 841-848.
- **ENCYCLOPÉDIE ENCARTA, (2006).**
- **Ernould, A. (2008).** Les vertus de l'oranger amer et de l'oranger doux. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Nantes, France, 107p.
- **Ersus, S., Çam, M. (2007).** Determination of organic acids, total phenolic content, and antioxidant capacity of sour *Citrus aurantium* fruits. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 607-609.
- **Essadik, F.Z., Haida, S., Kribii, A., Kribii, A.R., Ounine, K. (2015).** Antioxidant activity of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Peel from western of Morocco, identification of volatile compounds of its essential oil by GC-MS and a preliminary study of their antibacterial activity. *Int. J. Innov. Sci. Res.*, 16, 425-432.
- **Farahamandfar, R., Tirgariam, B., Dehgham, B., Nemati, A. (2019).** Comparison of different drying methods on bitter orange (*Citrus aurantium* L.) Peel waste: changes in physical (density and color) and essential oil (yield, composition, antioxidant and antibacterial) properties of powders. *Journal of Food Measurement and Characterization*, <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00334-x>
- **Fernandez, X., Chemat, F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation, Vuibert, Paris, 288p.
- **Frassinetti, S., Caltavuturo, L., Cini, M., Della Croce, C.M., Maserti, B.E. (2011).** Antibacterial and antioxidant activity of essential oils from *Citrus* sp. *Journal of Essential Oil Research*, 23(1), 27-31.
- **Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., Debraux, G. (1961).** Ressources médicinales de la flore française. Tome I, éd. Vigot Frères, Paris, 682p.
- **Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ali Ebrahimzadeh, M. (2009).** Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid Contents Of 13 *Citrus* Species Peels And Tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(3), 277-281.
- **Gholivand, M. G., Piryaei, M. (2013).** A method for fast analysis of volatile components of *Citrus aurantium* L. leaves. *Nat. Prod. Res.*, 27(14), 1315-1318.

Références bibliographiques

- **Giraud, N. (1993).** L'oranger doux, l'oranger amer. Thèse d'exercice en pharmacie, université Clermont Ferrand, France, 77p.
- **Girre, L. (1992).** La santé par les plantes. Ed. Ouest-France, Rennes, France, 222p.
- **Girre, L. (1995).** Les plantes médicinales. Ed. Ouest-France, Rennes, France, 32p.
- **Gontier, J. (2000).** L'oranger. Ed. Actes Sud, Arles, France, 89p.
- **Guenouni et kacemi. (2013).** Créations d'un verger agrumicole (cas du citronnier) dans la région de Mostaganem.
- **Guignard, J.L. (1998).** Abrégé de Botanique. 11^{ème} édition, Masson, Paris, 278p.
- **Gurib-Fakim, A., Demarne, F. (1995).** Aromatic Plants of Mauritius: Volatile Constituents of the Leaf Oils of *Citrus aurantium* L., *Citrus paradisi* Macfad and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *J. Essent. Oil. Res.*, 7(1), 105-109.
- **Hadrich, B., Kechaou, N., Dahak, K., Abdenouri N. (2008).** Etude de séchage des feuilles de bigaradier. *Revue des énergies renouvelables*, 145-149.
- **Halliwell, B. (1990).** Comment caractériser un antioxydant biologique. *Communications de recherche sur les radicaux libres*, 9(1), 1-32.
- **Hamdani, F.Z., Allem, R., Meziane, M., Setti, B., Ali, A.S., Bourai, M. (2015).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of Algerian *Citrus*. *African Journal of Biotechnology*, 14(12), 1048-1055.
- **Hendrix, C.M., Redd, J.B. (1995).** Chemistry and technology of *Citrus* juices and by products. Production and packaging of non-carbonated fruit juices and fruit beverages. Springer, Boston, MA, 53-87.
- **Hosni, K., Hassen, I., M'Rabet, Y., Sebei, H., Casabianca, H. (2013).** Genetic relationships between some Tunisian *Citrus* species based on their leaf volatile oil constituents. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 65-71.
- **Hosni, K., Zahed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Kallel, M., Sebei, H. (2010).** Composition of peel essential oils from four selected Tunisian *Citrus* species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*, 123(4), 1098-1104.
- **Jabri Karaoui, I., Marzouk, B. (2013).** Characterization of Bioactive Compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Peel and Juice and Determination of Their Antioxidant Activities. *BioMed. Research International*, doi: 10.1155/2013/345415.
- **Khaled, W., Zarrad, K., Souguir, S., Gasmi, C., Tayeb, W., Laarif, A., Chaieb, I. (2013).** Chemical composition of essential oils of fruits of three ripening stages of bitter orange and their insecticidal potential against the aphid (*Myzus persicae*). *Microbiol. Hyg. Alim*, 25, 107-111.

Références bibliographiques

- **Kimball, D.A. (1999).** *Citrus processing, a complete guide*, second edition. Kimball D.A., Ed. Gaithersburg, An Aspen publication.
- **Kirbaslar, F., Kirbaslar, S. (2003).** Composition of Cold-Pressed Bitter Orange Peel Oil from Turkey Oil. *J. Essent. Oil Res.*, 15, 6-9.
- **Kirbaslar, F.G., Tavman, A., Dulgers, B., Turker, G. (2009).** Antimicrobial Activity of Turkish Citrus Peel Oils. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 3207-3212.
- **Kouame, C., Ouattara, Z.A., Konan, M.K., N’Gaman-Kouassi, C.K.C., Tomi, F., Mamyrbekova-Bekro, J.A., Bekro, Y.A. (2017).** Quantitative organic composition and antioxidant potential of the essential oil from *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae) acclimated in Cote d’Ivoire. *Int. J. Curr. Res.*, 10, 73602-73605.
- **Larbi, D., Ghezli, C., Djelouah, K. (2009).** Historical review of *Citrus tristeza* virus (CTV) in Algeria. *Options méditerranéennes*, 107-110.
- **Lardry, J.M., Haberkorn, V. (2007).** L’aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie la Revue*, 61, 14-17.
- **Laurent, J. (2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse pour le diplôme d’état de docteur en Pharmacie, université de Rouen, France, 151p.
- **Le Bellec, F., Renard, V. (1997).** Le grand livre des fruits tropicaux. Ed. Orphie, Paris, France, 189p.
- **Leroy, J.F. (1968).** Les agrumes. In: Les fruits tropicaux et subtropicaux. Ed. presses Universitaires de France, 61-77.
- **Loillet D. (2010).** Agrumes et jus d’orange. In : Cyclope 2010 : les marchés mondiaux. "La renaissance du Palais d’Eté". Paris, Economica, 421-424.
- **Lota, M.L., De Rocca Serra, D., Jacquemond, C., Tomi, F., Casanova, J. (2001).** Chemical variability of peel and leaf essential oils of sour orange. *Flavour and Fragrance Journal*, 16, 89-96.
- **Loussert, R. (1989).** Les agrumes–arboriculture. Ed. Technique agricoles méditerranéennes, Paris, 113p.
- **Majnooni, M., Mansouri, K., Mohammadi Motlagh, H., Gholifand, M., Mostafaie, A., Afanzase, N., Abolghasemi, M., Piriyaie, M. (2011).** Chemical composition, cytotoxicity and antioxidant activities of the essential oil from the leaves of *Citrus aurantium* L. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 498-503.
- **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.

Références bibliographiques

- Melliou, E., Antonios, M., George, K., Alexios-Leandros, S., Prokopios, M. (2009). High quality bergamot oil from Greece: Chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the West Nile virus vector. *Molecules*, 14, 839-849.
- MESSAOUDI S., (2005). Les plantes médicinales. Editions du DAR EL FIKER, Tunis, 496p.
- Metoui, N., Gargouri, S., Amri, I., Fezzani, T., Jamoussi, B., Hamrouni, L. (2015). Activity antifungal of the essential oils, aqueous and ethanol extracts from *Citrus aurantium* L. *Natural product Research*, 29, doi.org/10.1080/14786419.2015.1007136.
- Michaelakis, A., Papachristos, D., Kimbaris, A., Koliopoulos, G., Giatropoulos, A., Polissiou, M.G. (2009). *Citrus* essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.*, 105, 769-773.
- Monsef-Esfahani, H.R., Amanzade, Y., Alhani, Z., Hajimehdipour, H., Faramarzi, M.A. (2004). GC/MS analysis of *Citrus aurantium* L. Hydrolate and its comparison with the commercial samples. *Iran. J. Pharm. Res.*, 3, 177-179.
- Moraes, T.M., Kushima, H., Moleiro, F.C., Santos, R.C., Rocha, L.R.M., Marques, M.O., Vilegas, W., Hiruma-Lima, C.A. (2009). Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico-Biological Interactions*, 180, 499-505.
- Njoroge, S.M., Ukeda, H., Kusunose, H., Sawamura, M. (1994). Volatile components of the essential oils from kabosu, daidai, and yuko, Japanese sour *Citrus* fruits. *Flavour Fragr. J.*, 9, 289-297.
- Njoroge, S.M., Ukedo, H., Sawamura, M. (2003). Changes of the volatile Profile and Artifact formation in Daidas (*Citrus aurantium*) Cold-Pressed Peel oil on storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5, 4029-4035.
- Njoroge, S.M., Phi, N.T.L., Sawamura, M. (2009). Chemical composition of peel essential oils of sweet oranges (*Citrus sinensis*) from Uganda and Rwanda. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(1), 26-33.
- Ouedrhiri, W., Bouhdida, S., Balouria, M., El Ouali Lalamib, A., Mojac, M., Ouazzani Chahdid, F., Grechea, H. (2015). Chemical composition of *Citrus aurantium* L. leaves and zest essential oils, their antioxidant, antibacterial single and combined effects. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(1), 78-84.
- Oulebsir-Mohandkaci, H., Ait Kaki, S., Behidj-Benyounes, N. (2016). Phytochemical Study and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Insecticidal Activity of Essential Oils and Polyphenols of Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.). *Int. Journal of Advances in Chemical Engg., Biological Sciences (IJACEBS)*, 3(1), 163-167.

Références bibliographiques

- **Pfaller, M.A., Messer, S.A., Karlsson, Å., Bolmström, A. (1998).** Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9), 2586-2589.
- **Pino, J., Rosado, A. (2000).** Composition of Cold-Pressed Bitter Orange Oil from Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, 12, 675-676.
- **Praloran, J.C. (1971).** Les agrumes, techniques agricoles et productions tropicale. Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, 561p.
- **Quintero, C.N., Gonzalez, F., Sanchez, A., Usubillaga, L.R. (2009).** Constituents and biological activity of *Citrus aurantium amara* essential oil. International Conference on Medicinal and Aromatic Plants (Part II) *Acta Horticulturae*, 597, 2.
- **Salunkhe, Dattajirao, K., Kadam, S., eds. (1995).** Handbook of fruit science and technology: production, composition, storage, and processing. CRC press.
- **Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-Calixto, F. (1999).** Free radical scavenging capacity of selected red rosé and white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79 (10), 1301-1304.
- **Sanei-Dehkordi, A., Sedaghat, M.M., Vatandoost, H., Abai, M.R. (2016).** Chemical Compositions of the Peel Essential Oil of *Citrus aurantium* and Its Natural Larvicidal Activity against the Malaria Vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) in Comparison with *Citrus paradisi*. *Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 10(4), 577-585.
- **Saonere Suryawanshi, J.A. (2011).** An overview of *Citrus aurantium* used in treatment of various diseases. *African Journal of Plant Science*, 5(7), 390-395.
- **Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. (2013).** Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. Growing in Greece. *Molecules*, 18, 10639-10647.
- **Sayah, M.Y., Taouda, H., Chabir, R., Yousfi, L.K, Derwich, E., Kandri Rodi, Y., Ouazzani Chahid, F., Errachidi, F. (2013).** Valorisation des déchets industriels d'agrumes par l'extraction des huiles essentielles. *Gestion et Protection de l'Environnement Proceedings*, 3, 124-129.
- **Schauenberg, P. (1977).** Le guide des plantes médicinales. 3^{ème} édition, Ed. Delachaux et Nestlé, Paris, France, 396p.
- **Seddik, M. (2010).** Analyse physico-chimique et spectroscopie de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de la région d'Adrar, Etude de son activité biologique et anti-oxydante. Mémoire Pour l'obtention du Diplôme de magister, Spécialité : Chimie Moléculaire : Analyse, Modélisation, Synthèse, université d'Oran, Algérie, 111p.

Références bibliographiques

- **Sherif, A.E., Marzouk, A.M., Zaghloul, M.G., Halim, A.F. (2015).** Chemical composition and cytotoxic activity of petitgrain essential oil of *Citrus aurantium* L. "Russian colon". *J. Am. Sci.*, 11(8), 64-68.
- **Tena, M.T., Valcarcel, M., Hidalgo, P.J., Ubers, J.L. (1997).** Supercritical Fluid Extraction of Natural Antioxidants from Rosemary: Comparison with Liquid Solvent Sonication. *Analytical Chemistry*, 69, 521-526.
- **Teneva, D., Denkova-Kostova, R., Goranov, B., Hristova-Ivanova, Y., Slavchev, A., Denkova, Z., Kostov, G. (2019).** Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial activity of essential oil from *Citrus aurantium* L. zest against some pathogenic microorganisms. *Z. Fur. Nat.-Sect. C. J. Biosci.*, 74, 105-111.
- **Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Lavoisier Tec. et Doc., France, 544p.
- **Trabelsi, D., Haj Ammar, A., Bouabdallah, F., Zagrouba, F. (2014).** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and methanolic extracts of Tunisian *Citrus aurantium* L. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 8, 18-27.
- **Trabelsi, D., Mougou Hamdane, A., Ben Said, M., Abdrrabba, M. (2016).** Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils from Flowers, Leaves and Peels of Tunisian *Citrus aurantium* Against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(7), 1660-1674.
- **Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P.I., Lazurca, D., Mason, T.J. (1997).** The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4, 135-139.
- **Zarrad, K., Chaieb, I., Ben Hamouda, A., Bouslama, T., Laarif, A. (2017).** Chemical composition and insecticidal effects of *Citrus aurantium* essential oil and its powdery formulation against *Tuta absoluta*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 12, 83-94.

Annexe

Tableau 1 : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (station Maghnia)

Echantillons	Poids (g) (matériel végétal)	Poids HE (g)	Rendements (%)
E1	417,89	3,9	0,940
E2	466,29	5,0	1,072
E3	367,10	3,7	1,007
E4	228,40	1,0	0,437
E5	253,00	1,7	0,671
E6	207,70	1,3	0,625
E7	351,70	2,0	0,568
E8	327,40	2,3	0,702
E9	292,10	1,1	0,376
E10	565,70	3,8	0,671
E11	379,20	3,7	0,975
E12	421,80	3,0	0,711
Moy ± ET	0,72 ± 0,22		

E : Echantillon, HE : Huille essentielle, Moy : Moyenne, ET ; Ecart type

Tableau 2 : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* (station El Fehoul)

Echantillons	Poids (g) (matériel végétal)	Poids HE (g)	Rendements (%)
E1	271,6	2,6	0,957
E2	275,0	5,5	2,000
E3	320,8	4,7	1,278
E4	529,2	5,1	0,963
E5	203,7	0,7	0,343
E6	217,4	1,2	0,551
E7	373,5	2,7	0,722
E8	387,7	3,5	0,902
E9	308,0	2,0	0,684
E10	397,8	2,0	0,503
E11	316,2	1,2	0,379
E12	316,2	2,2	0,695
Moy ± ET	0,82 ± 0,45		

E : Echantillon, HE : Huille essentielle, Moy : Moyenne, ET ; Ecart type