وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département : Sciences Biologiques

جامعة غليزان
RELIZANE UNIVERSITY

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER
Biochimie appliquée

Intitulé

Étude des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle des zestes de *Citrus aurantium* (Bigaradier)

Présenté par :

***Mlle* : BENSIDAHMED Assma Djamila**

***Mlle* : CHAIB Ikram**

Devant les membres de jury

Président	**Dr Meliani Meriem**	**Maître de conférence (B)**	**(Univ. Relizane)**
Encadrant	**Dr BELHAMRA Zineb**	**Maître de conférence (A)**	**(Univ. Relizane)**
Examinateur	**Dr OUCIF Hanane**	**Maître de conférence (A)**	**(Univ. Relizane)**

Année universitaire : 2025/2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah le Tout-Puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre encadreur, Madame Zineb Belhamra, pour son accompagnement, sa disponibilité, ses précieux conseils, sa rigueur scientifique et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses orientations et ses encouragements ont été d'une grande aide pour l'aboutissement de ce travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce mémoire et d'y consacrer leur temps.

Nos remerciements s'étendent à l'ensemble des enseignants du département de Biologie qui ont contribué à notre formation académique et scientifique durant notre cursus universitaire.

Nous remercions également toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce travail et nous ont apporté leur aide et leur soutien.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à nos familles et à nos proches pour leur soutien moral, leur confiance et leurs encouragements tout au long de nos études..

Merci à tous

Dédicace

À l’aide de dieu ’’Allah’’ tout puissant Qui m’a tracé le chemin de ma vie,

J’ai pu réaliser ce travail

Je dédie ce travail à moi-même, pour chaque effort invisible, chaque larme retenue, chaque moment de doute surmonté avec courage. Derrière cette réussite se cache un long chemin de patience, de force et de persévérance. Je suis fière d'avoir continué à avancer malgré les épreuves rencontrées sur mon chemin.

A mes chers parents source de tendresse, De noblesse et d’affectation Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

À mon frère Mohamedet à ma sœur Nesrine, qui occupent une place particulière dans mon cœur. Merci pour votre soutien, votre affection et tous les moments partagés qui ont rendu mon chemin plus beau.

À ma très chère amie Wissal, pour son amitié sincère, sa présence dans les bons comme dans les mauvais moments, et pour tous les souvenirs que nous avons construits ensemble

Merci.

Assma

Dédicace

À moi-même

Je dédie ce mémoire à moi-même.

Pour tous les efforts que j'ai fournis, les moments de fatigue que j'ai surmontés et la persévérance dont j'ai fait preuve tout au long de ce parcours.

Je suis fière d'avoir cru en mes capacités et d'être arrivée jusqu'à cette étape importante de ma vie.

À mon cher père

Merci pour ton soutien, tes sacrifices et ta confiance. Que Dieu te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi.

À mes chers frères

Je vous souhaite un avenir rempli de réussite, de bonheur et de succès. Puisse Dieu vous permettre d'atteindre les plus hautes distinctions.

À ma très chère grand-mère

Merci pour ton amour, tes prières et ton soutien indéfectible. Tu as toujours souhaité me voir réussir et atteindre les plus hauts sommets. Que Dieu te protège et te garde en bonne santé.

Enfin

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail

Ikram

LISTE DES ABREVIATIONS

- **$AlCl_3$** : Chlorure d'aluminium
- **Abs** : Absorbance
- **ATCC** : American Type Culture Collection
- **CN** : Contrôle Négatif
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
- **DSA** : Direction des Services Agricoles
- **EAG** : Équivalents d'Acide Gallique
- **EQ** : Équivalents Quercétine
- **ERO** : Espèces Réactives de l'Oxygène
- **FRAP** : Ferric Reducing Antioxidant Power
- **HE** : Huile Essentielle
- **HES** : Huile Essentielle du Zeste
- **IC_{50}** : Concentration Inhibitrice à 50 %
- **LPS** : Lipopolysaccharides
- **MS** : Matière Sèche
- **$NaNO_2$** : Nitrite de sodium
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium
- **Rdt** : Rendement
- **SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méticilline
- **SOD** : Superoxyde Dismutase
- **UV** : Ultraviolet

Liste des figures

- **Figure 01** : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau **……3**
- **Figure 02** : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation**……..4**
- **Figure 03** : Schéma du montage de l'expression à froid**……..5**
- **Figure 04** : Structure de l'unité isoprénique.(L'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) **……5**
- **Figure 05** : Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des HE**…… 6**
- **Figure 06** : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant **……8**
- **Figure 07** : la balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants**……..9**
- **Figure 08** : Fleurs, feuilles et fruit du *Citrus aurantium***……10**
- **Figure 09** : **:** Distribution géographique du bigaradier**……..13**
- **Figure 10** : Dispositif d`extraction par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger**…… 18**
- **Figure 11** : Huile essentielle de *Citrus aurantium* obtenue après extraction**……18**
- **Figure 12** : évaluation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'huile essentielle *citrus aurantuim* en fonction de la concentration **……27**

Liste des tableaux

Tableau1: Principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes**)……..7**

Tableau2: Description de *Citrus aurantium***.....11**

Tableau3: : Rendements (%) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* de la région de Relizane**……22**

Tableau4: Résultats de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle de *C.aurantium* vis-à-vis des bactéries pathogènes**……28**

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale **1**

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Les huiles essentielles

1- Définition **2**

2- localisation des huiles essentielles **2**

3-Les principales méthodes d'extraction **3**

3.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau **3**

3.2. Extraction par Hydrodistillation **3**

3.3. Extraction par pressage à froid **4**

4-Composition des huiles essentielles **5**

4.1. les terpénoïdes **5**

4.2 Les composés aromatiques **6**

4.3 Les composés d'origines diverses **6**

II .Activité antioxydante

1-Les radicaux libres **7**

2-**Le stress oxydatif** **8**

3-**Mécanisme d'action des antioxydants** **8**

4-**Principales méthodes d'évaluation de l'activitéantioxydante** **9**

4-1 DPPH **9**

4-2 FRAP **9**

4-3 Blanchiment du β-carotène **9**

4-4 Piégeage du radical hydroxyle (•OH) **9**

4-5 Piégeage du radical superoxyde (O_2•$^-$) **9**

III-*citrus aurantuim*

1-Nom et origine **10**

2- Description botanique **10**

2-1 le fruit **11**

2-2les feuilles **11**

2-3 les fleurs **11**

2-4 les graines **11**

3.Répartition géographique **12**

4.La composition chimique **13**

4.1 Le jus de *citus aurantium* **13**

4.2 Fleures de *citus aurantium* **13**

4.3 Les feuilles de *citrus aurantium* **14**

4.4 Composition des écorces de *Citrus aurantium* **14**

5. Les différents usages de *Cirtus aurantium* **14**

5.1.Les usages traditionnels de *Citrus aurantium* **14**

5. 2.Les usages pharmaceutiques de *Citrus aurantium* **15**

5.2.1. Les préparations officinales **15**

5.2.2. Utilisation en médecine conventionnelle (allopathie) **16**

5.3.Les usages cosmétiques de *Citrus aurantium* **16**

Chapitre 02 : Matériels et Méthodes

- **Objectif** 17
- **Extraction des huiles essentielles** 17
- **Détermination du rendement de l'huile essentielle** 18
- **Évaluation du pouvoir antioxydant** 19
- **Dosage des polyphénols totaux** 19
- **Dosage des flavonoïdes totaux** 20
- **Activité antimicrobienne** 20

Chapitre03: Résultats et Discussion

- **Évaluation du rendement en H. E de *C.aurantium*** 22
- **Activité antioxydante par le Test DPPH** 24
- **Dosage des polyphénols totaux** 25
- **Dosage des flavonoïdes totaux** 26
- **Évaluation de l'activité antibactérienne** 27

conclusion

Références bibiliographiques

Résumé

Cette **é**tude a porté sur la valorisation de l'huile essentielle extraite des zestes de *Citrus aurantium* récoltés dans la région de Relizane (Algérie). L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger. Le rendement obtenu a varié entre 1,07 % et 1,87 %, avec une moyenne de 1,51 ± 0,41 %, indiquant une richesse appréciable des zestes en huile essentielle.

L'activité antioxydante a été évaluée par le test du DPPH. Les résultats ont montré une forte capacité de piégeage des radicaux libres avec un pourcentage d'inhibition atteignant 86,98 %. La valeur de l'IC50 a été estimée à 5,58 mg/mL, traduisant une activité antioxydante élevée.

Le dosage des polyphénols totaux a révélé une teneur de 73,68 mg EAG/g d'huile essentielle, tandis que la teneur en flavonoïdes totaux a atteint 36,96 mg EQ/g d'huile essentielle. Ces résultats confirment la richesse de l'huile essentielle en composés bioactifs responsables de ses propriétés biologiques.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a montré une sensibilité de *Proteus spp.* et *Enterobacter spp.* vis-à-vis de l'huile essentielle, alors qu'aucune activité inhibitrice n'a été observée contre les souches de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* testées.

Les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel antioxydant et antibactérien de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* et suggèrent son intérêt comme source naturelle de composés bioactifs utilisables dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique.

Mots-clés : *Citrus aurantium*, huile essentielle, hydrodistillation, activité antioxydante, DPPH, polyphénols, flavonoïdes, activité antibactérienne.

Abstract

This study focused on the valorization of the essential oil extracted from the peels of *Citrus aurantium* collected in Relizane region, Algeria. The essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus. The extraction yield ranged from 1.07% to 1.87%, with an average value of 1.51 ± 0.41%, indicating a significant richness of the peels in essential oil.

The antioxidant activity was evaluated using the DPPH radical scavenging assay. The results showed a strong antioxidant potential with an inhibition percentage reaching 86.98%. The IC50 value was estimated at 5.58 mg/mL, demonstrating a high free radical scavenging capacity.

The determination of total polyphenols revealed a content of 73.68 mg GAE/g of essential oil, while total flavonoids reached 36.96 mg QE/g of essential oil. These findings confirm the richness of the essential oil in bioactive compounds responsible for its biological properties.

The antibacterial assay showed that *Proteus spp.* and *Enterobacter spp.* were sensitive to the essential oil, whereas no inhibitory activity was observed against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* strains.

These results highlight the antioxidant and antibacterial potential of *Citrus aurantium* essential oil and support its possible use as a natural source of bioactive compounds in pharmaceutical, food, and cosmetic applications.

Keywords: *Citrus aurantium*, essential oil, hydrodistillation, antioxidant activity, DPPH, polyphenols, flavonoids, antibacterial activity.

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم بعض الخصائص البيولوجية للزيت العطري المستخلص من قشور ثمار البرتقال المر المجمعة من ولاية غليزان (الجزائر).تم استخراج الزيت العطري باستعمال تقنية التقطير المائي بواسطة جهاز كليفنجر، حيث تراوحت مردودية الاستخراج بين 1.07٪ و1.87٪ بمتوسط قدره 1.51 ± 0.41٪، مما يدل على غنى القشور بالزيت العطري.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال اختبار DPPH، وأظهرت النتائج قدرة عالية على تثبيط الجذور الحرة، حيث بلغت نسبة التثبيط القصوى 86.98٪، بينما قدرت قيمة IC50 بـ 5.58 ميليغرام/مل، مما يعكس فعالية مضادة للأكسدة معتبرة.

كما تم تحديد محتوى البوليفينولات الكلية والفلافونويدات الكلية، حيث بلغت التراكيز 73.68 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من الزيت العطري و36.96 ملغ مكافئ كيرسيتين/غ من الزيت العطري على التوالي، وهو ما يؤكد غنى الزيت بالمركبات الفينولية ذات الأهمية البيولوجية.

وأظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا فعالية الزيت العطري ضد سلالات *Proteus spp*. و*Enterobacter spp*.، في حين لم يسجل أي تأثير مثبط على سلالات *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Staphylococcus aureus* المستعملة في هذه الدراسة.

تؤكد هذه النتائج أن الزيت العطري لقشور البرتقال المر يمثل مصدراً طبيعياً مهماً للمركبات الحيوية الفعالة، ويمكن أن يشكل بديلاً واعداً في المجالات الصيدلانية والغذائية والتجميلية بفضل خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: البرتقال المر، الزيت العطري، التقطير المائي، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للبكتيريا

Introduction

Introduction générale

Les plantes médicinales et aromatiques représentent une source importante de substances naturelles utilisées depuis l'Antiquité pour leurs nombreuses propriétés biologiques. Aujourd'hui, elles suscitent un intérêt croissant dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique en raison de la présence de composés bioactifs tels que les huiles essentielles, les polyphénols et les flavonoïdes.

Parmi ces plantes, *Citrus aurantium* L., communément appelé bigaradier ou orange amère, appartient à la famille des *Rutaceae*. Cette espèce est largement cultivée dans les régions méditerranéennes et est appréciée pour ses différentes utilisations traditionnelles et industrielles. Ses fleurs, ses feuilles et particulièrement ses zestes sont riches en composés naturels présentant diverses activités biologiques.

Les huiles essentielles extraites des zestes de *Citrus aurantium* sont reconnues pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Grâce à leur richesse en métabolites secondaires, elles peuvent contribuer à la neutralisation des radicaux libres responsables du stress oxydatif et inhiber le développement de certains microorganismes pathogènes.

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif l'extraction de l'huile essentielle des zestes de *Citrus aurantium* récoltés dans la région de Relizane, ainsi que l'évaluation de certaines de ses propriétés biologiques. Cette étude porte sur la détermination du rendement d'extraction, l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du DPPH, le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne vis-à-vis de différentes souches bactériennes.

Afin d'atteindre ces objectifs, ce mémoire est structuré en trois parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur *Citrus aurantium*, les huiles essentielles et l'activité antioxydante. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisés. Enfin, la troisième partie regroupe les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Les huiles essentielles

1- Définition

Les huiles essentielles sont des extraits liquides concentrés issus de plantes aromatiques, largement exploités dans divers secteurs industriels. Leur extraction repose sur différentes méthodes qui influencent directement leurs propriétés physico-chimiques ainsi que leurs activités biologiques. Composés de plus de 200 constituants, ces extraits intègrent majoritairement des substances volatiles. Leur diversité chimique leur confère des propriétés remarquables, notamment en tant qu'agents antimicrobiens, anticancéreux, anti-inflammatoires et antiviraux **(Aziz et al., 2018).**

L'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1987) définit plus précisément l'huile essentielle comme un produit d'origine végétale obtenu soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation à sec, ou encore par un traitement mécanique de l'épicarpe (zestes) des *Citrus*. Ce processus de fabrication inclut systématiquement une séparation physique finale pour isoler l'essence de la phase aqueuse. **(Slougui et Mahfoud, 2017).**

2- Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de composés organiques volatils, principalement issus du métabolisme secondaire des plantes. Elles sont synthétisées et accumulées dans différents organes végétaux tels que les fleurs, les feuilles, les tiges, les racines, les graines ainsi que les écorces. Leur rendement varie considérablement en fonction de l'espèce, de l'organe utilisé et des conditions environnementales, et peut osciller entre 0,001 % et 9 % de la matière végétale.

Ces substances naturelles sont largement exploitées pour leurs propriétés aromatiques et leurs activités biologiques, notamment dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Leur richesse en métabolites secondaires, tels que les terpènes et leurs dérivés oxygénés, leur confère une diversité structurale et fonctionnelle à l'origine de leurs effets biologiques variés. **(Ahmed et al., 1993).**

3-Les principales méthodes d’extraction:

3.1. Extraction par entraînement à la vapeur d’eau

L’entraînement à la vapeur d’eau est une méthode officielle d’extraction des huiles (Figure01). Elle consiste à faire passer de la vapeur à travers la matière végétale afin d’entraîner les composés volatils. Les vapeurs sont ensuite condensées puis séparées en deux phases : une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique correspondant à l’huile. (**Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F (2012)..)**

Cette technique permet d’éviter le contact direct entre l’eau et la plante, limitant ainsi la dégradation des composés aromatiques et préservant la qualité de l’huile essentielle. L’extraction est généralement rapide, et permet de récupérer la majorité des composés volatils, notamment les fractions les plus légères riches en esters **. (Raaman, N.2006).**

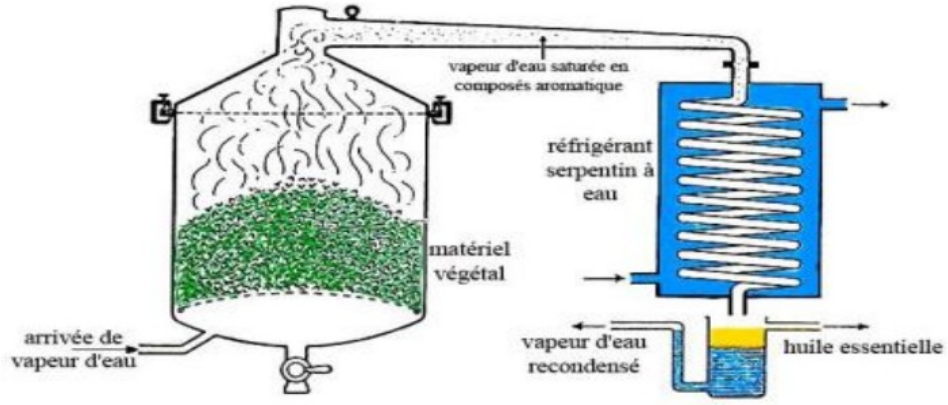


Figure 01: Montage d’entraînement à la vapeur d’eau **(Raaman, N.2006).**

3.2. Extraction par Hydrodistillation

L’hydrodistillation, ou méthode de Moritz, repose sur le principe de distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger directement la matière végétale dans l’eau contenue dans un alambic, puis à porter l’ensemble à ébullition.

Sous l’effet de la chaleur, la vapeur d’eau provoque la rupture des structures cellulaires de la plante, facilitant ainsi la libération des composés volatils. Ces derniers sont entraînés avec la vapeur hors du matériau végétal.

La vapeur chargée en substances aromatiques est ensuite condensée dans un serpentin, puis recueillie dans un système de décantation (essencier). Après séparation, l’huile essentielle,

insoluble dans l'eau, se retrouve sous forme de phase organique distincte, tandis que la phase aqueuse correspond à l'hydrolat, contenant les composés hydrosolubles **(Hellal, Z.;2011)**

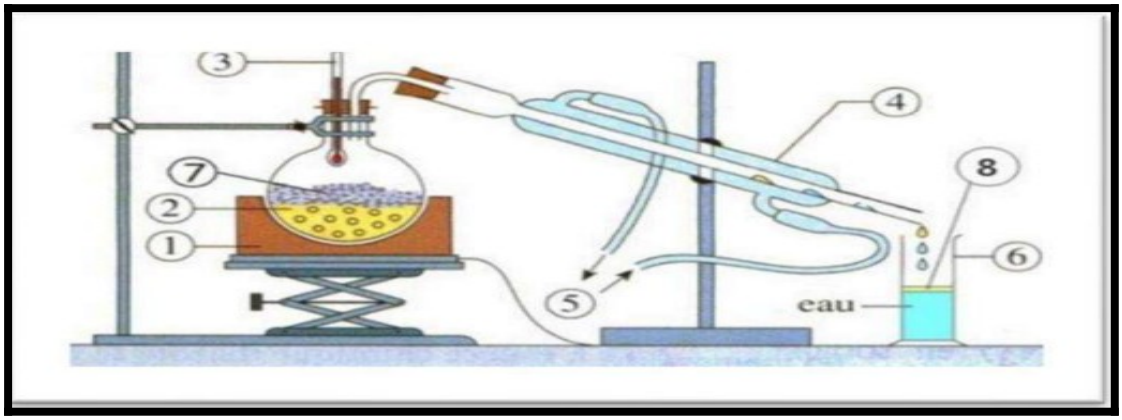


Figure 02: Schéma du principe de la technique dhydrodistillation **(Hellal, Z.;2011)**

1-Chauffe ballon 5-Entrer et sortie d'eau de refroidissement

2-Ballon 6-Eprouvette graduée

3-Thermomètre 7-Matière à extraire l'essence

4-Réfrigérant 8-La couche d'HES

3.3. Extraction par pressage à froid

Le pressage à froid est une méthode d'extraction simple, spécifiquement appliquée aux agrumes dont l'épicarpe contient des poches sécrétrices riches en essences. Cette technique consiste à exercer une pression mécanique sur les zestes frais afin de rompre ces structures et libérer les composés volatils. Le produit obtenu, appelé « essence », se distingue par l'absence de transformation chimique au cours du procédé, ce qui permet de préserver l'intégrité de sa composition naturelle. **(KORICHI, K. C., & MAHCEN, R.)**

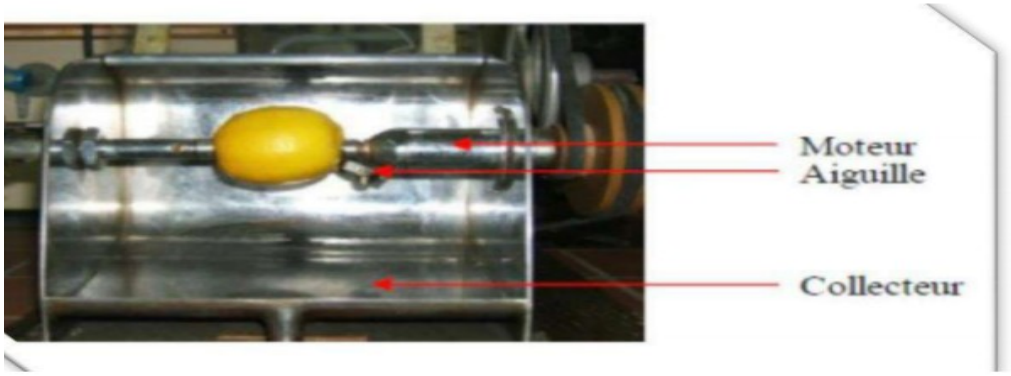


Figure03: Schéma du montage de l'expression à froid**.(KORICHI, K. C., & MAHCEN, R.)**

4-Composition des huiles essentielles :

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants est due exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques sont : les terpénoïdes et les composés aromatiquesdérivés du phenylpropane.

4.1. les terpénoïdes :

Les terpènes sont des molécules très volatiles fréquentes dans la nature, surtout dans les plantes où ce sont les principaux constituants des huiles essentielles. Les terpènes sont issus du couplage d'au moins 2 sous-unités isopréniques à 5 carbones **(Bottin,L.2006)**

Selon la règle de Wallach, les terpènes sont formés par l'assemblage d'unités d'isoprène (C_5H_8). Cette règle permet de comprendre leur structure, leur classification et leur diversité chimique. Les terpènes constituent les principaux composés des huiles essentielles et sont responsables de nombreuses propriétés biologiques. **(Bruneton, 2009).**

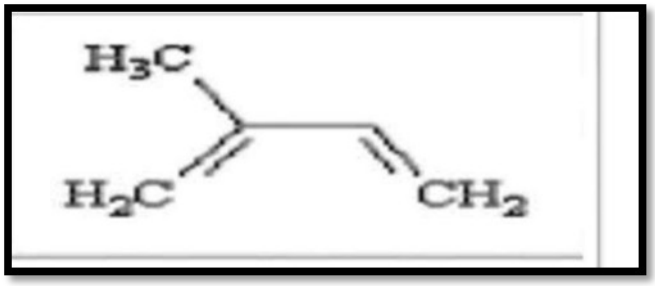


Figure 04: Structure de l'unité isoprénique.(L'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) **(Abbane, M., & Benesseddik, B. 2023)**

4.2 Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont présents en plus faible quantité dans les huiles essentielles, mais ils jouent un rôle important dans la détermination de

leurs propriétés organoleptiques. Ces composés, tels que l'allyle et le propénylphénol, sont en grande partie responsables des arômes et des saveurs caractéristiques des huiles essentielles. Un exemple représentatif est l'eugénol, qui confère au clou de girofle son odeur distinctive. **(BENCHEIKH, S. E. ;2017)**



Figure05: Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des HE. **(Bottin, L;2006)**

4.3 Les composés d'origines diverses :

En raison de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent contenir divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, qui peuvent être entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces composés peuvent inclure des substances azotées, soufrées, ainsi que des caroténoïdes ou des acides gras**. (Abbane, M., Benesseddik, ; 2023)**

II /Activité antioxydante:

L'activité antioxydante suscite actuellement un intérêt considérable tant dans le domaine de la recherche biomédicale que parmi le grand public. Les concepts liés aux radicaux libres, aux espèces réactives de l'oxygène (ERO), au stress oxydatif et aux antioxydants, autrefois réservés à la communauté scientifique, sont désormais largement connus et étudiés. Cet engouement s'explique principalement par la reconnaissance croissante du rôle des antioxydants dans la prévention et la protection contre diverses altérations physiologiques. Depuis les années 2000, les avancées de la recherche, associées aux efforts de l'industrie pharmaceutique, des laboratoires d'analyses biomédicales et des médias, ont largement contribué à la diffusion de ces notions auprès de la population générale **(Hadjdjilani et al., 2022).**

- **Les radicaux libres**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, possédant un électron non apparié sur leur couche externe, ce qui leur confère une grande instabilité et une forte réactivité. Afin de retrouver leur stabilité, ils réagissent avec les molécules

environnantes en captant ou en cédant des électrons, entraînant ainsi des réactions en chaîne génératrices de nouveaux radicaux libres. Les espèces oxydantes regroupent principalement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ainsi que celles contenant de l'oxygène associé à l'azote ou au chlore **(Rahou, 2017 ; Larbi, 2022).**

Source des radicaux libres

Tableau01 : Principales sources des radicaux libres (endogènes et exogènes)

Endogènes	**Exogènes**
NADPH oxydase	Toxiques environnementaux
Chaine respiratoire mitochondriale	Radiations ionisantes
Peroxysomes	Radiations UV
Cytochromes P450	Champ électrique
Xanthine oxydase	Xénobiotiques pro-oxydants

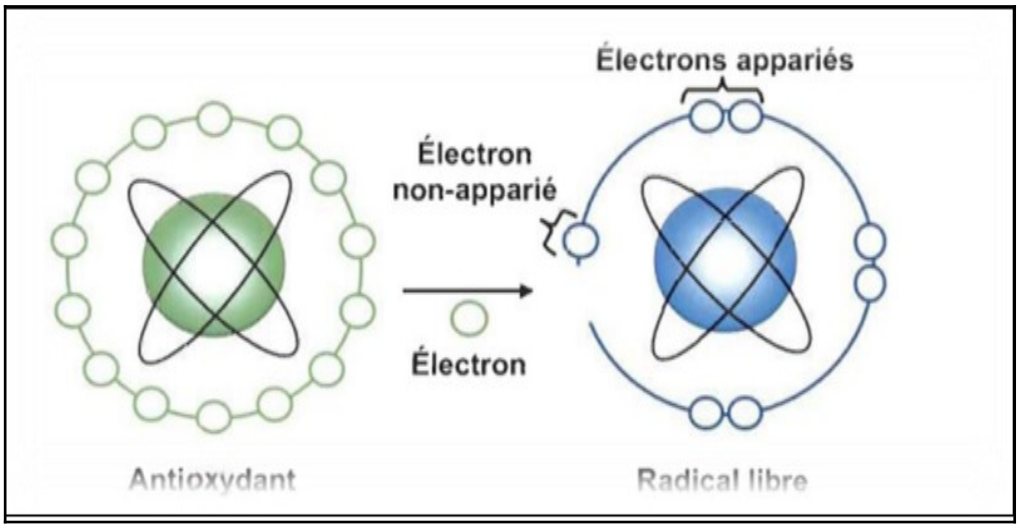


Figure 06: Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant **(Carange, 2010).**

- **Le stress oxydatif**

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la production d'espèces oxydantes, notamment les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ERO), et les mécanismes antioxydants de l'organisme. Lorsque les défenses antioxydantes deviennent insuffisantes ou que la production d'agents pro-oxydants augmente excessivement, ce déséquilibre peut entraîner des altérations cellulaires et tissulaires. Plusieurs facteurs peuvent favoriser son apparition, tels que les processus inflammatoires, les carences en antioxydants, l'exposition à la pollution, aux rayonnements, aux substances toxiques, ainsi que le tabagisme, l'alcool, certains médicaments ou un effort physique excessif **(Boudjedjou, 2020).**

- **Mécanisme d'action des antioxydants**

En conditions physiologiques normales, un équilibre est maintenu entre la production des radicaux libres et les systèmes de défense antioxydants de l'organisme. Ces mécanismes reposent principalement sur des enzymes antioxydantes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase, ainsi que sur des composés non enzymatiques comme les vitamines A, C et E et les polyphénols issus de l'alimentation. La SOD joue un rôle essentiel en transformant l'ion superoxyde (O_2^-), précurseur de nombreux radicaux libres, en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier est ensuite dégradé par la catalase et les peroxydases en eau et en oxygène, limitant ainsi les dommages oxydatifs. L'activité antioxydante de ces composés peut être évaluée par différentes méthodes analytiques, notamment le test au DPPH **(Koudou, 2009).**

- **Principales méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante**

- **DPPH** : mesure la capacité d'un antioxydant à neutraliser le radical libre DPPH, entraînant une diminution de son absorbance .Le test DPPH évalue la capacité des antioxydants à transférer un électron (SET) ou un atome d'hydrogène (HAT) afin de neutraliser le radical libre DPPH. **(Sanchez-Moreno, 2002 ; Wollinger et al., 2016).**
- **FRAP** (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) : évalue le pouvoir réducteur des antioxydants par leur capacité à réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} **(Pan et al., 2008).**
- **Blanchiment du β-carotène** : mesure l'aptitude des antioxydants à inhiber l'oxydation du β-carotène induite par l'acide linoléique **(Laguerre et al., 2007).**
- **Piégeage du radical hydroxyle (•OH)** : détermine la capacité des composés à neutraliser les radicaux hydroxyles générés par la réaction de Fenton **(Miguel, 2010).**
- **Piégeage du radical superoxyde (O_2•$^-$)** : évalue l'inhibition de la formation des anions superoxyde produits par le système xanthine–xanthine oxydase **(Miguel, 2010).**

Figure

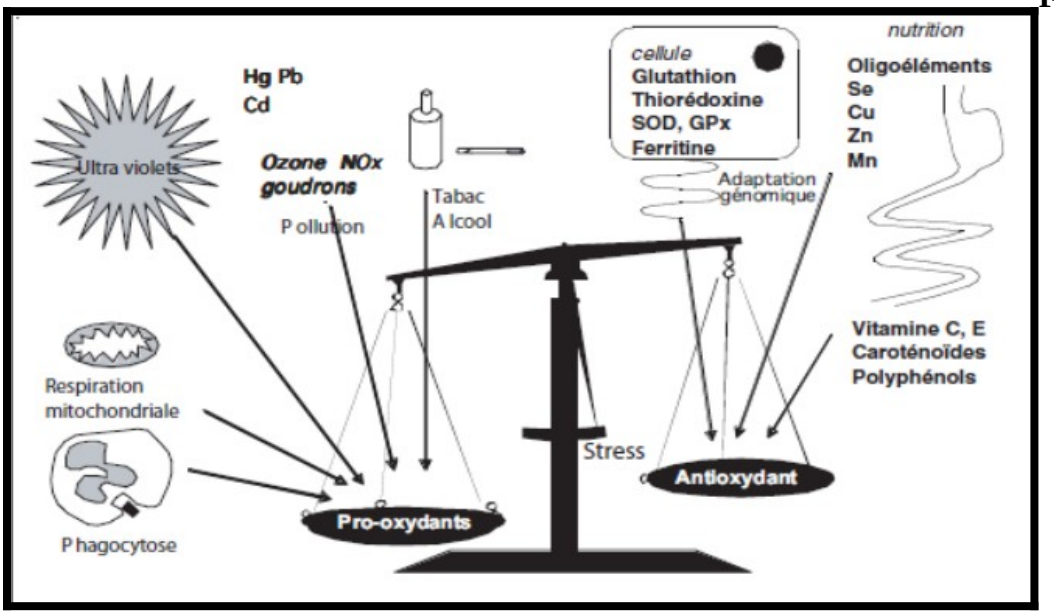


figure07 : la balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants **(Favier,2006).**

III/citrus aurantuim

1-Nom et origine de *Citrus aurantium* :

Nom scientifique : *Citrus aurantium L.*

Nom arabe : la randj ; الرنج**(Farid, 2011).**

Noms communs : bigaradier ; orange amère

Le terme " *Citrus aurantium* " trouve son origine dans le latin. Le mot "citrus" signifie cédratier, désignant un arbre appartenant au genre Citrus. Ce terme est attesté en langue française depuis 1869 les espèces du genre Citrus regroupent des arbres produisant des fruits communément appelés agrumes.

Le terme "*aurantium*" fait référence à la couleur orangée caractéristique des fruits produits par cet arbre **(cerdagne ,2004)**

L'oranger amer appartient à la famille des *Rutaceae* et au genre Citrus. Il est également connu sous les noms d'oranger de Séville ou bigaradier, et se développe principalement dans un climat subtropical **(Deterre, 2012).**

Le bigaradier est originaire de Chine, puis il s'est progressivement diffusé vers l'Inde, l'Arabie et ensuite l'Égypte. Il a été introduit en Europe par les Arabes, notamment en Sicile au XI^{e} siècle. Aujourd'hui, il est cultivé en Amérique centrale, en Amérique du Sud ainsi que dans le bassin méditerranéen **(Farhat et al., 2010).**

Figure08:



Fleurs, feuilles et fruit du *Citrus aurantium* **(Ghédira et Goetz, 2015).**

2- Description botanique :

L'orange amer, également connu sous le nom de bigaradier, est un arbuste orné d'épines qui peut atteindre 4 à 5 mètres de hauteur **(Hadrich et al., 2009).** Il se distingue par ses fleurs blanches odorantes (figure 1) **(Fugh-Berman et Myers, 2004).**

2-1 le fruit : mesure environ 7 cm de diamètre, avec une peau (écorce) dure et une pulpe acide. Il est très résistant au froid, à l'excès d'eau et à certaines pathologies **(Deterre, 2012).**

2-2les feuilles: Selon **Giraud (1993),** les feuilles de bigaradier sont d'un vert éclatant, résistantes, pérennes, simples et présentées en alternance (une feuille par nœud). Elles possèdent une odeur discrète et un goût amer, leur forme est ovale avec un sommet légèrement acuminé. Elles ont des pétioles articulés et plus ou moins ailés, et elles mesurent à peu près 8 cm de longueur pour 4 cm de largeur **(Escartin, 2011).**

2-3 les fleurs : : blanches et fortement parfumées, peuvent atteindre jusqu'à 25 mm de diamètre **(Escartin, 2011).** Elles sont composées de quatre à cinq pétales imbriqués, généralement recourbés vers l'extérieur **(Polese, 2008).** Les fleurs apparaissent soit isolément, soit regroupées en petites grappes disséminées le long des rameaux. Par ailleurs, la surface foliaire présente de minuscules pores appelés stomates, facilement observables au microscope, qui jouent un rôle essentiel dans les échanges gazeux de la plante. **(Khouri V et al., 2006; de Moraes et al., 2006)**

2-4 les graines : ont une teinte allant du blanc au vert clair, sont aplaties et présentent des angles. Elles sont polyembryonnaires, signifiant qu'elles disposent de plusieurs embryons capables de germer. Les embryons peuvent être de type zygotique, issus de la pollinisation de l'ovaire par reproduction sexuée, ou nucléaire, dérivant entièrement de la plante mère et montrant des traits très semblables à cette dernière **(Polese, 2008).**

Tableau 02: Description de *Citrus aurantium* **(Messaoudi, 2005)**

Espèce	***Citrus aurantium***
Nom 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.Répartition géographique :

Originaire d'Asie, le bigaradier s'est progressivement propagé de la Chine vers l'Inde, puis vers la péninsule Arabique et l'Égypte. Son introduction en Europe est attribuée aux Arabes, qui l'auraient implanté en Sicile au cours du XI^{e} siècle. Actuellement, cette espèce est cultivée dans plusieurs régions du monde, notamment en Amérique centrale, en Amérique du Sud ainsi que dans l'ensemble du bassin méditerranéen **(Farhat et al, 2010).**

Le bigaradier est cultivé dans de nombreuses régions du monde, notamment en Italie, principalement en Calabre (province de Reggio de Calabre) et en Sicile (provinces de Palerme, Messine et Syracuse), ainsi qu'en Espagne, particulièrement en Andalousie. Sa culture est également répandue en Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Tunisie et en Côte d'Ivoire, ainsi qu'au Proche-Orient, notamment en Palestine et au Liban. On le retrouve aussi en Californie aux États-Unis, au Brésil, au Paraguay et dans les Grandes Antilles, notamment en Jamaïque, à Porto Rico et en Haïti. En France, le bigaradier est principalement cultivé le long du littoral méditerranéen. **(Cerdagne, 2006).** Les principaux pays producteurs sont présentés dans la Figure 02.

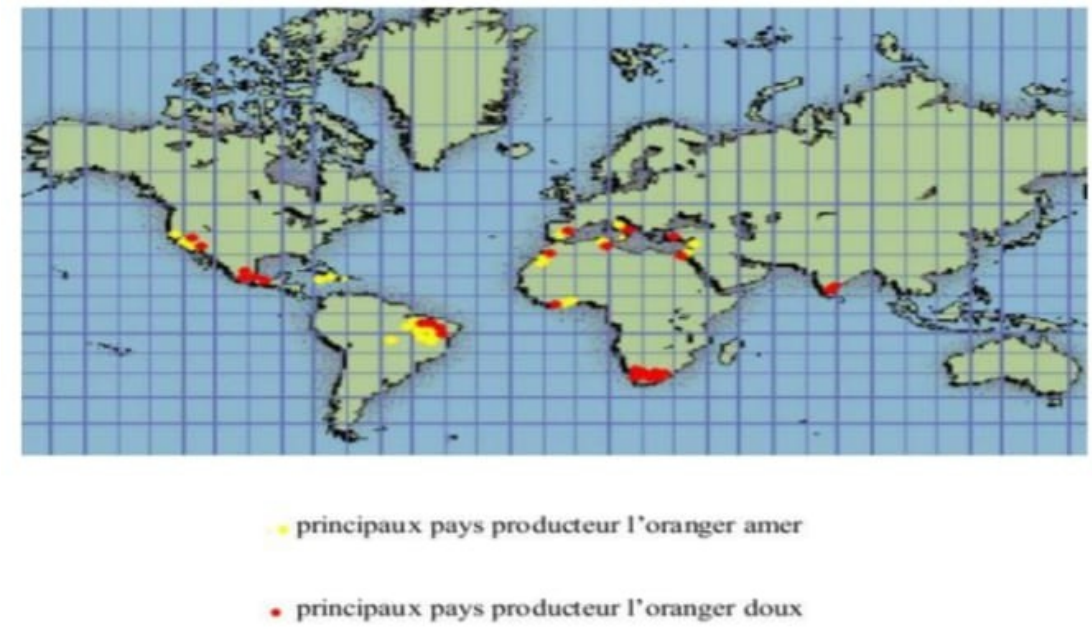


Figure 09 : Distribution géographique du bigaradier (*Citrus aurantium*L.)

ENCYCLOPEDIE ENCARTA, (2006)

4.La composition chimique :

4.1 Le jus de *Citrus aurantium* :

Le jus de *Citrus aurantium* est riche en composés phénoliques, dont les acides phénoliques représentent la fraction majoritaire (71 %), notamment l'acide p-coumarique (18 %) et l'acide férulique (19 %). Les flavonoïdes sont également présents (23 %), avec la rutine comme composé principal.

Les composés aromatiques du jus sont dominés par des hydrocarbures monoterpéniques, principalement le limonène (92 %), suivi de l'α-phellandrène (2 %) et de l'α-thujène (1 %). Des sesquiterpènes oxygénés ont également été identifiés, notamment l'oxyde de caryophyllène (1,4%).

Par ailleurs, le jus présente une teneur élevée en composés phénoliques totaux (295 ± 4 mg EAG/g) et en flavonoïdes (26 mg Eq Q/g).

4.2 Fleures de *citus aurantium :*

Les fleurs de *Citrus aurantium* sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes. Les principaux composés identifiés sont l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide syringique, la rutine, le pyrogallol, la naringine et la quercétine.

La teneur totale en composés phénoliques varie de 4,5 mg EAG/g MS à 81 ± 3 mg EAG/g d'extrait, tandis que la teneur en flavonoïdes varie de 4 mg équivalent rutine/g MS à 20 ± 3 mg EQ/g d'extrait.

L’huile essentielle des fleurs est constituée principalement de monoterpènes oxygénés, d’hydrocarbures monoterpéniques, d’hydrocarbures aliphatiques et d’esters.

Par ailleurs, plusieurs composés ont été identifiés dans les pétales, notamment l’acide D-glucuronique (10 %), le D-limonène (5,5 %), l’acide octadécénoïque (4 %), la daphnétine (3,7 %), l’acide hexadécanoïque (2 %), le linalol (2 %), la pyrrolidinone (1,2 %) et l’acide phtalique (1 %).

4.3 Les feuilles de *Citrus aurantium :*

Les feuilles contiennent principalement des composés phénoliques et des flavonoïdes, ainsi que des phytostérols, des saponines, des tanins et des terpénoïdes.

L’huile essentielle est dominée par l’eucalyptol (43 %), le sabinène (17 %), le β-linalol (15 %) et l’α-terpinéol (8 %), avec des teneurs plus faibles en α-pinène (1,3 %), β-myrcène (1,2 %), 4-terpinéol (1,1 %), β-pinène (1 %), D-limonène (1 %) et O-cymène (1 %).

Les composés phénoliques totaux varient de 8 à 107 ± 2 mg EAG/g MS, et les flavonoïdes de 5 à 14 mg EQ/g MS.

4.4 Composition des écorces de *Citrus aurantium*

L’écorce de *Citrus aurantium* est riche en huiles essentielles (0,1–1,7 %), dominées par le limonène, composé majoritaire (jusqu’à 90 %). Elle contient principalement des Hydrocarbures monoterpéniques (51–72,5 %) et des monoterpènes oxygénés (7–46 %).

Les composés phénoliques sont dominés par les acides phénoliques (74 %) et les flavonoïdes (23 %), notamment l’acide p-coumarique (25 %) et l’acide férulique (24 %).

L’écorce contient également de la pectine avec un rendement de 28–29 %, composée principalement d’acide galacturonique (65–71 %). **(Maksoud et al., 2021)**

5. Les différents usages de *Cirtus aurantium:*

5.1. Les usages traditionnels de *Citrus aurantium*:

Les fleurs de *Citrus aurantium* sont traditionnellement utilisées pour la préparation de l’eau de fleurs d’oranger (môzhar), parfois obtenue en association avec les fleurs de l’oranger doux. Cette préparation occupe une place importante dans la médecine populaire et les pratiques cosmétologiques traditionnelles. Elle est administrée aux nourrissons pour ses propriétés apaisantes et favorisant le sommeil, tandis que chez l’adulte, elle est employée pour soulager les troubles digestifs, notamment l’aérophagie, souvent en association avec le carvi. Les fleurs séchées sont également consommées sous forme d’infusion pour des usages similaires.

L’écorce du fruit est utilisée sous forme de décoction ou de poudre pour le traitement des coliques, alors que les feuilles fraîches sont préparées en infusion pour leurs effets sédatifs et

relaxants. Le fruit, son jus ainsi que son écorce sont couramment employés pour aromatiser et acidifier les olives, tandis que les fleurs sont utilisées pour parfumer le thé à la menthe.

En phytothérapie, le fruit est reconnu pour ses propriétés digestives et carminatives, contribuant à faciliter la digestion et à réduire les flatulences. Consommé en infusion, il est également utilisé pour atténuer les céphalées et les états fébriles. Son jus est apprécié pour son action stimulante sur les défenses naturelles de l'organisme. Par ailleurs, les huiles essentielles extraites du bigaradier sont réputées pour leurs effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire et nerveux ; elles sont utilisées pour réguler le rythme cardiaque, atténuer les palpitations et favoriser un sommeil réparateur. En aromathérapie, l'essence de néroli, généralement diluée, est employée lors de massages relaxants. Enfin, les huiles essentielles de néroli et de petit-grain constituent des ingrédients de grande valeur dans l'industrie de la parfumerie **(Cassan et al., 2008).**

5. 2. Usages pharmaceutiques de *Citrus aurantium*:

5.2.1. Les préparations officinales

Les fleurs du bigaradier sont utilisées pour obtenir l'eau distillée de fleurs d'oranger, connue pour ses effets sédatifs légers sur le système nerveux central ainsi que pour ses propriétés antispasmodiques **(Girre, 1992).** Elle est employée pour traiter les insomnies, notamment chez les enfants, les palpitations cardiaques, les crampes musculaires et les maux de tête **(Gontier, 2000 ; Boullard, 2001).** Elle peut aussi être utilisée contre la toux et l'aérophagie chez l'adulte, souvent en association avec le carvi **(Bellakhdar, 1997 ; Girre, 1992).**

Cette eau distillée entre dans la composition de plusieurs préparations comme le julep simple, le julep gommeux, le sirop de fleurs d'oranger, les sirops d'espèces pectorales (looch blanc et looch huileux), ainsi que le sirop de Desessartz et l'élixir de Garrus.

À partir des fruits, la teinture d'écorce d'orange amère est utilisée comme eupeptique, tonique amer et stimulant, avec des propriétés apéritives **(Schauenberg, 1977 ; Girre, 1995).** Elle est présente dans certaines préparations comme l'élixir Grez, utilisé dans le traitement des troubles digestifs tels que les ballonnements, la lenteur digestive, les éructations et les flatulences. Elle entre également dans la composition de la Quintonine, utilisée en cas d'asthénie fonctionnelle.

Le sirop d'écorce d'orange amère possède des propriétés similaires à la teinture, notamment eupeptiques, toniques et antispasmodiques **(Girre, 1995**). Il peut aussi être utilisé comme édulcorant pour améliorer le goût de certains médicaments.

Par ailleurs, des études in vitro ont montré que le limonène, principal composé des huiles essentielles des écorces d'agrumes, présente des activités anticancéreuses et antitumorales, et

favorise la différenciation cellulaire. Il peut également stimuler le métabolisme grâce à la présence de synéphrine **(Saonere Suryawanshi, 2011).**

5.2.2. Utilisation en médecine conventionnelle (allopathie)

En médecine conventionnelle, l'orange amère est principalement utilisée comme agent aromatisant dans diverses préparations pharmaceutiques en raison de son parfum agréable et de sa saveur caractéristique. Elle entre dans la composition de formulations destinées à différentes voies d'administration, notamment orale, nasale,

buccale et cutanée. Les principaux dérivés employés à cet effet sont l'huile essentielle d'orange amère, l'eau distillée de fleurs d'oranger, l'alcoolat d'orange amère ainsi que l'huile essentielle de néroli **(Cerdagne, 2004).**

5.3. Usages cosmétiques de *Citrus aurantium:*

Les extraits de *Citrus aurantium* sont largement utilisés dans l'industrie cosmétique en raison de leurs propriétés biologiques et de leurs qualités aromatiques. Bien que l'extrait d'orange amère présente une activité antioxydante lorsqu'il est consommé, son application cutanée peut parfois provoquer des irritations en raison de la présence de certains composés potentiellement irritants.

L'extrait d'écorce de *Citrus aurantium* amara constitue une matière première entrant dans la formulation de nombreux produits cosmétiques, notamment les produits autobronzants, les après-shampoings, les savons, les shampoings et les produits de maquillage **(Saonere Suryawanshi, 2011).**

Par ailleurs, *Citrus aurantium* est utilisé pour contribuer au maintien de la tonicité et de l'apparence de la peau, améliorer l'éclat du teint et favoriser l'activité métabolique cutanée. Grâce à son parfum caractéristique, il est également largement employé dans la fabrication de produits de parfumerie **(Saonere Suryawanshi, 2011).**

Chapitre 2 :

Matériel et méthodes

1. Objectif

Le présent travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Relizane, a pour objectif l'extraction de l'huile essentielle des zestes de *Citrus aurantium* récolté dans de la région de Relizane et l'évaluation de ses propriétés biologiques à travers la détermination de l'activité antioxydante, de la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes, ainsi que de son activité antibactérienne.

2. Extraction des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1999)**, l'hydrodistillation est une méthode d'extraction des huiles essentielles qui consiste à immerger le matériel végétal dans l'eau puis à porter le mélange à ébullition, généralement à pression atmosphérique. Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales se rompent et libèrent leurs composés volatils. Les vapeurs produites sont ensuite condensées par refroidissement, puis séparées en une phase aqueuse et une phase organique correspondant à l'huile essentielle.

L'huile essentielle des zestes de *Citrus aurantium* a été obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Les fruits de bigaradier, récoltés la veille de l'extraction, ont été lavés à l'eau et rincés à l'eau distillée afin d'éliminer les impuretés résiduelles, séchés puis pelés manuellement. Les zestes ainsi obtenus ont été, soumis à l'hydrodistillation pour l'extraction de l'huile essentielle. Une quantité déterminée de zestes frais a été immergée dans de l'eau distillée et portée à ébullition pendant environ 2 heures.

Sous l'effet de la chaleur, les composés aromatiques volatils ont été entraînés par la vapeur d'eau, puis condensés dans un réfrigérant. Le distillat obtenu a été recueilli dans le dispositif de Clevenger, permettant la séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse par différence de densité. L'huile essentielle récupérée conservée dans des flacons en verre ambré hermétiquement fermés à 4 °C jusqu'aux analyses ultérieures.

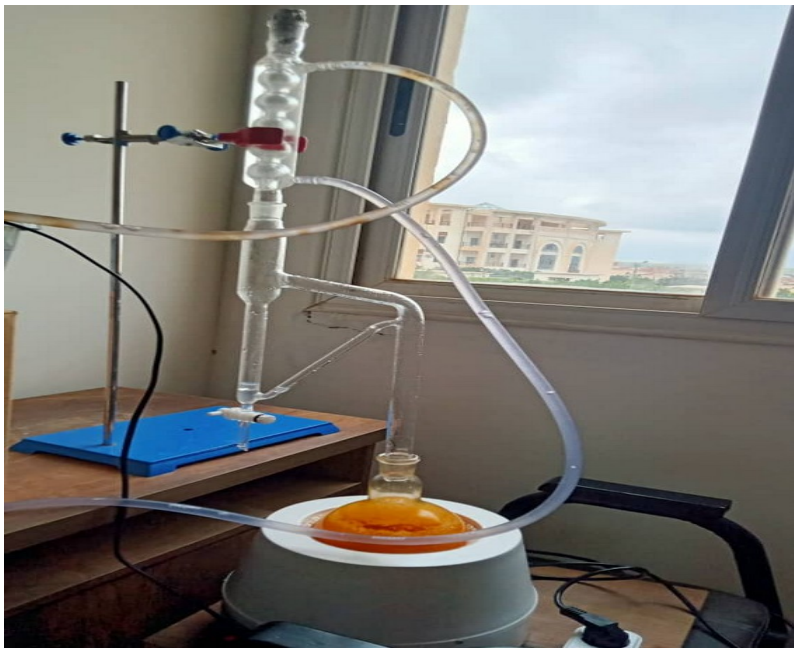


Figure 10: dispositif d`extraction par hydrodistillation avec un appareil de type clevenger



Figure 11: Huile essentielle de *Citrus aurantium* obtenue après extraction**.**

3. Détermination du rendement de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile essentielle extraite et le poids de la biomasse végétale utilisée **(Foe et al., 2016).**

Dans cette étude, le rendement de l'huile essentielle extraite à partir des zestes de *Citrus aurantium* a été calculé à l'aide de la formule suivante :

Rdt (%) = PHE / Pmv×100

PHE : poids de l'huile essentielle récupérée (g).

Pmv: poids de la matière végétale (g).

4. Évaluation du pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* a été évalué par le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), fondé sur la capacité des antioxydants à neutraliser ce radical libre stable. Lors de sa réduction par un donneur d'hydrogène, le radical DPPH est transformé en hydrazine, ce qui se traduit par un changement de couleur de la solution, passant du violet au jaune. La diminution de l'absorbance mesurée à 517 nm est proportionnelle à l'activité antiradicalaire de l'échantillon ; ainsi, une faible absorbance traduit une activité antioxydante élevée **(Tigrine, 2016).**

Selon la méthode décrite par Sanchez-Moreno et al. (1998), une solution méthanolique de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. Ensuite, 50 µL d'huile essentielle, ont été ajoutés à 1500 µL de la solution de DPPH. Le témoin négatif a été préparé en remplaçant l'huile essentielle par 50 µL de méthanol , tandis que l'acide ascorbique a servi d'antioxydant de référence (témoin positif).. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant un blanc approprié.

Expression des résultats et paramètre à calculée L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

DPPH% = [(Abs (CN) – Abs (échantillon)/ Abs (CN)] x 100

• DPPH% : l'activité anti-radicalaire % • Abs (CN) : du contrôle négatif • Abs (échantillon) : Absorbance d'échantillon.

Des valeurs IC50 ont été calculées d'extrait et de la quercitrine pour déterminer l'inhibition de 50% des radicaux DPPH **(Tigrine, 2016).**

5. Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en composés phénoliques de l'huile essentielle a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Cheng et Li (2004).

À cet effet, 200 µL d'huile essentielle préalablement diluée ont été mélangés à 1,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 10 %. Après 5 minutes de réaction, 1,5 mL de carbonate de sodium à 5 % ont été ajoutés au mélange. Après une incubation de 2 heures à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur en polyphénols totaux a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'huile essentielle (mg EAG g^{-1}).

6. Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux de l'huile essentielle a été évaluée selon la méthode décrite par **Barros et al. (2011)**. Un volume de 1 mL d'huile essentielle préalablement diluée a été mélangé à 0,3 mL de solution de $NaNO_2$ à 5 %. Après 5 minutes, 0,3 mL de solution de $AlCl_3$ à 10 % ont été ajoutés. Ensuite, 2 mL de NaOH ont été incorporés au mélange, puis le volume final a été ajusté à 10 mL avec de l'eau distillée. L'absorbance a été mesurée à 430 nm. La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme d'huile essentielle (mg EQ g^{-1}).

7. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé contre les souches bactériennes suivantes ;

Souches ATCC	**Souches d'origine cliniques**
***Escherichia coli* ATCC 25922**	*Staphylococcus aureus*
***Staphylococcus aureus* ATCC 25923**	*Staphylococcus epidermidis*
***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**	*Proteus mirabilis*
	Enterobacter sp.
	Pseudomonas aeruginosa

Les souches bactériennes d'origine clinique ont été obtenues auprès du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Relizane et ont été utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus aurantium*.

L’inoculum bactérien a été préparé à partir de cultures fraîches des différentes souches étudiées. Les bactéries ont d’abord été ensemencées sur gélose nutritive puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures afin d’obtenir des colonies bien isolées. À l’aide d’une anse stérile, plusieurs colonies ont ensuite été prélevées et mises en suspension dans des tubes contenant de l’eau distillée stérile. La densité cellulaire des suspensions obtenues a été ajustée de manière à correspondre au standard 0,5 de McFarland, soit une densité optique comprise entre 0,08 et 0,10 à 620 nm. Les inocula ainsi préparés ont été utilisés pour l’évaluation de l’activité antibactérienne.

L’ensemencement a été réalisé par écouvillonnage à la surface de boîtes de Pétri contenant le milieu de culture Mueller-Hinton préalablement solidifié. Après ensemencement, des disques stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés de 10 µL d’huile essentielle diluée dans le DMSO pour obtenir différentes concentrations (100 %, 50 %, 25 %, 12,5 % et 6,25 %), ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée. Un disque contenant un antibiotique de référence a été utilisé comme témoin positif, tandis qu’un disque imprégné de DMSO a servi de témoin négatif. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. À l’issue de l’incubation, l’activité antibactérienne de l’huile essentielle a été évaluée par la mesure des diamètres des zones d’inhibition autour des disques.

Chapitre 3

Résultats et discussion

- **Évaluation du rendement en H. E de *C.aurantium***

L'extraction de l'huile essentielle des zestes de *Citrus aurantium* (bigaradier) a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Les zestes ont été prélevés à partir de fruits frais récoltés dans la région de Relizane. Trois extractions indépendantes ont été effectuées afin d'évaluer la reproductibilité de la méthode et la variabilité du rendement en huile essentielle.

Les huiles essentielles obtenues sont incolores avec un aspect liquide et caractérisées par une forte odeur.

Tableau 03 : Rendements (%) en huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* de la région de Relizane

Extraction	Masse végétale (g)	Volume HE (ml)	Rendement (%)
Extraction 1	129g	1.38g	1,07
Extraction 2	190g	3.56g	1,58
Extraction 3	250g	3.94g	1,87
	Moyenne ± Écart-type		**1,51 ± 0,41**

Le rendement obtenu de l'extraction de l'huile essentielle du zest de bigaradier *C.aurantium* de **1,51 ± 0,41% .** La variabilité observée entre les trois extractions s'explique probablement par l'hétérogénéité interindividuelle des arbres échantillonnés, les conditions édaphiques locales et le stade de maturité des fruits au moment de la récolte **(Bakkali *et al.*., 2008 ; Teuscher *et al.*., 2005).**

Djenane (2015) a obtenu un rendement de 1,17% pour l'huile essentielle des écorces de *C. aurantium*, valeur proche de notre extraction. Dans une étude menée sur des pieds individuels de bigaradier récoltés à Tlemcen, **Belghorzi et Khelifa (2022)** ont observé une forte variabilité des rendements, allant de 0,34 à 2,0%, avec des moyennes de 0,72% (Maghnia) et 0,82% (El Fehoul). Nos rendements sont supérieurs à ces moyennes, ce qui peut s'expliquer par les caractéristiques pédoclimatiques particulières de la région de Relizane, quatrième wilaya agrumicole d'Algérie selon les statistiques nationales (DSA, 2017). **Abderrezak *et al.*, (2014)** ont également souligné l'influence des conditions pédologiques sur la composition et le rendement en huile essentielle chez *C. aurantium* cultivé dans différentes régions d'Algérie.

En Tunisie, **Hosni *et al.*. (2010)** ont obtenu un rendement de 1,24% pour le Zest de *C.*

aurantium. **Boussaada et Chemli (2007)** rapportent des valeurs variantes entre 0,8 et 1,3% selon la saison de récolte, confirmant l'importance du facteur phénologique, c'est-à-dire l'influence du stade de développement de la plante au moment de la récolte (floraison, fructification, maturation, etc.) sur la quantité et la composition des métabolites produits, notamment les huiles essentielles. **Trabelsi *et al.*. (2014)** rapportent un rendement similaire de 1,17%. Au Maroc, **Ouedrhiri *et al.*. (2015)** ont obtenu un rendement de 1,85% à partir du zeste de *C. aurantium*, valeur très proche de notre troisième extraction (1,87%). **Bendaha *et al.*. (2016)** rapportent des teneurs variants entre 1,1 et 4,5% selon la localité et la période de récolte dans l'est du Maroc.

Trois facteurs principaux permettent d'expliquer la variabilité des rendements observée ;

- ✓ **Les conditions pédoclimatiques de Relizane** : la région bénéficie d'un ensoleillement important et d'un sol favorable à la culture agrumicole, conditions reconnues pour favoriser l'accumulation des métabolites secondaires dans les tissus végétaux **(Bakkali *et al..*, 2008).**
- ✓ **Le stade de maturité des fruits** : la récolte en hiver correspond à la pleine maturité des bigarades, période à laquelle la teneur en huile essentielle est généralement maximale. **Boussaada et Chemli (2007)** ont montré que les rendements chez *C. aurantium* varient significativement selon la saison de récolte.
- ✓ **La variabilité génétique :** le bigaradier présente une diversité génétique notable se traduisant par des variations phénotypiques dans la production d'huile essentielle. Ce constat a été bien mis en évidence par **Belghorzi et Khelifa (2022)** sur des pieds individuels à Tlemcen.

Les rendements obtenus à partir du zeste de *Citrus aurantium* de la région de Relizane sont satisfaisants et comparables à ceux décrits pour cette espèce en Afrique du Nord. Ces résultats confirment le potentiel de valorisation de cette ressource végétale locale dans les filières des huiles essentielles.

- **Activité antioxydante par le Test DPPH**

Bien que les antioxydants de synthèse soient efficaces, peu coûteux et utilisés à des doses strictement réglementées afin de limiter les risques de toxicité, un intérêt croissant pour les produits naturels s'est manifesté depuis les années 1980. Cette tendance a favorisé le développement d'extraits végétaux à visée antioxydante, reconnus pour leurs propriétés biologiques susceptibles de contribuer à la diminution du risque de certaines maladies **(De-Reynal et Multon, 2009; Belghorzi et Khelifa,2022).**

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de bigaradier possède une activité antioxydante importante vis-à-vis du radical DPPH. L'augmentation du volume de l'huile essentielle entraîne globalement une augmentation du pourcentage d'inhibition, passant de 59,31 % à 10 µL à 86,98 % à 150 µL.

L'activité maximale a été observée pour le volume de 150 µL, avec une inhibition de près de 87 %, traduisant une forte capacité de neutralisation des radicaux libres. Cette activité peut être attribuée à la présence de composés terpéniques et oxygénés connus pour leurs propriétés antioxydantes, notamment le limonène, le linalol et d'autres composés phénoliques présents dans l'huile essentielle de *Citrus aurantium.*

L'IC_{50} correspond à la concentration (ou au volume) capable d'inhiber 50 % du radical DPPH,La valeur de l'IC_{50} de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* déterminée à partir du test DPPH a été estimée à 5,58 mg/Ml. Cette faible valeur témoigne d'une activité antioxydante élevée et d'une forte capacité de neutralisation des radicaux libres. Plus la valeur d'IC_{50} est faible, plus le potentiel antioxydant de l'échantillon est important.

L'activité peut être attribuée à la richesse de l'huile essentielle en composés terpéniques, principalement le limonène, qui constitue généralement entre 85 et 99 % de la composition chimique des huiles essentielles de *Citrus aurantium*. D'autres composés minoritaires tels que le linalol, l'α-terpinéol et certains monoterpènes oxygénés peuvent également contribuer à l'activité antioxydante par des effets synergiques **(Ashmawy et al., 2024). Teneva et al. (2019)** ont démontré que l'huile essentielle extraite du zeste de *Citrus aurantium* possède une activité antioxydante notable dans le test DPPH et qu'elle est plus active que le limonène pur.

- **Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium* a été réalisé selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, avec l'acide gallique comme composé de référence. Les résultats obtenus indiquent une teneur en polyphénols totaux de 73,68 µg/mL, correspondant à 73,68 mg EAG/g d'huile essentielle.

En comparant ces résultats à ceux de **Benkaddour et Attar (2020)** obtenus à partir de *Citrus aurantium* récolté en Algérie (wilaya d'Aïn-Témouchent), on observe une teneur plus faible en polyphénols dans leur extrait éthanolique d'écorces séchées (12,415 ± 0,27 mg EAG/g MS) par rapport à notre huile essentielle.

Cette différence peut s'expliquer principalement par la nature de l'échantillon et la méthode d'extraction utilisée. Dans notre cas, les zestes frais ont été soumis à une hydrodistillation, ce qui concentre les composés volatils et certains composés phénoliques dans une fraction plus réduite. En revanche, l'extraction à l'éthanol 80 % utilisée par ces auteurs cible surtout les composés polaires sans effet de concentration comparable à la distillation.

Lagha-Benamrouche et Madani (2013) ont trouvé une teneur de 31,62 ± 0,88 mg GAE/g MS dans l'écorce de *Citrus aurantium* cultivé en Algérie, une valeur inférieure à la nôtre. Cela suggère que l'hydrodistillation des zestes frais permet une meilleure extraction des composés phénoliques présents dans les glandes de l'écorce. En revanche, **Ghasemi et al. (2009)** ont rapporté une teneur beaucoup plus élevée (223,2 mg EAG/g MS) pour la bigarade iranienne. Cette différence peut s'expliquer par la variété de la plante, les conditions climatiques et du sol, ainsi que par la méthode d'extraction utilisée.

Ces résultats confirment les données de la littérature montrant que la teneur en polyphénols des agrumes varie selon l'origine géographique, le stade de maturité, la méthode et le solvant d'extraction, ainsi que les conditions de séchage et de conservation (**Lagha-Benamrouche et al., 2017 ; Benkaddour et Attar, 2020**).

La valeur obtenue dans notre étude (73,68 mg EAG/g) s'explique par la richesse naturelle du zeste de *Citrus aurantium* en composés phénoliques, notamment les acides p-coumarique (25 %) et férulique (24 %), ainsi qu'en flavonoïdes (23 %). Ces composés sont surtout présents

dans le flavédo, la partie du zeste utilisée pour l'extraction (**Benkaddour et Attar, 2020 ; Sawalha et al., 2009**).

- **Dosage des flavonoïdes totaux**

La teneur en flavonoïdes totaux a été mesurée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et au nitrite de sodium ($NaNO_2$), en utilisant la quercétine comme référence. Les résultats obtenus indiquent une teneur en flavonoïdes totaux de 36,96 µg/mL, soit 36,96 mg EQ/g d'huile essentielle.

Par rapport à **Benkaddour et Attar (2020**), leur extrait éthanolique d'écorces séchées de *C. aurantium* contient une teneur en flavonoïdes plus faible (8,12 ± 0,39 mg ECAT/g MS) que celle obtenue dans notre huile essentielle (36,96 mg EQ/g). Cette différence s'explique par la méthode d'extraction : l'hydrodistillation des zestes frais concentre mieux les flavonoïdes présents dans les glandes de l'épicarpe, alors que l'extraction à l'éthanol des écorces sèches cible surtout les composés hydrosolubles et peut entraîner des pertes.

Lagha-Benamrouche et Madani (2013) ont trouvé une faible teneur en flavonoïdes dans l'écorce de bigarade de Béjaïa (1,17 ± 0,01 mg CE/g MS), tandis que **Brixi Gormat et al. (2015)** ont obtenu des valeurs encore plus basses pour les pépins de Tlemcen (0,033 à 0,043 mg CE/g MS). De même, **Khettal et al. (2017)** ont rapporté 5,08 ± 0,40 mg QE/g MS dans les feuilles.

Toutes ces valeurs restent inférieures à celles obtenues dans notre étude sur l'huile essentielle de zeste. **Sawalha et al. (2009)** ont rapporté que la peau des agrumes est plus riche en flavonoïdes que les graines.

Les principaux flavonoïdes du zeste de *C. aurantium* sont la naringine, l'hespéridine, la néohespéridine et la rutine **(Peterson et al., 2006 ; Benkaddour et Attar, 2020).** Ils sont connus pour leurs activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, ce qui explique en partie le potentiel bioactif de l'huile essentielle **étudiée (Ghedira, 2005 ; Yi et al., 2017).**

Les différences observées entre les études peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, comme la variété de la plante, les conditions climatiques et du sol, la méthode d'extraction, le mode

de conservation, le stade de maturité et les facteurs génétiques **(Rapisarda et al., 1999 ; Barberan et Espin, 2001 ; Benkaddour et Attar, 2020).**

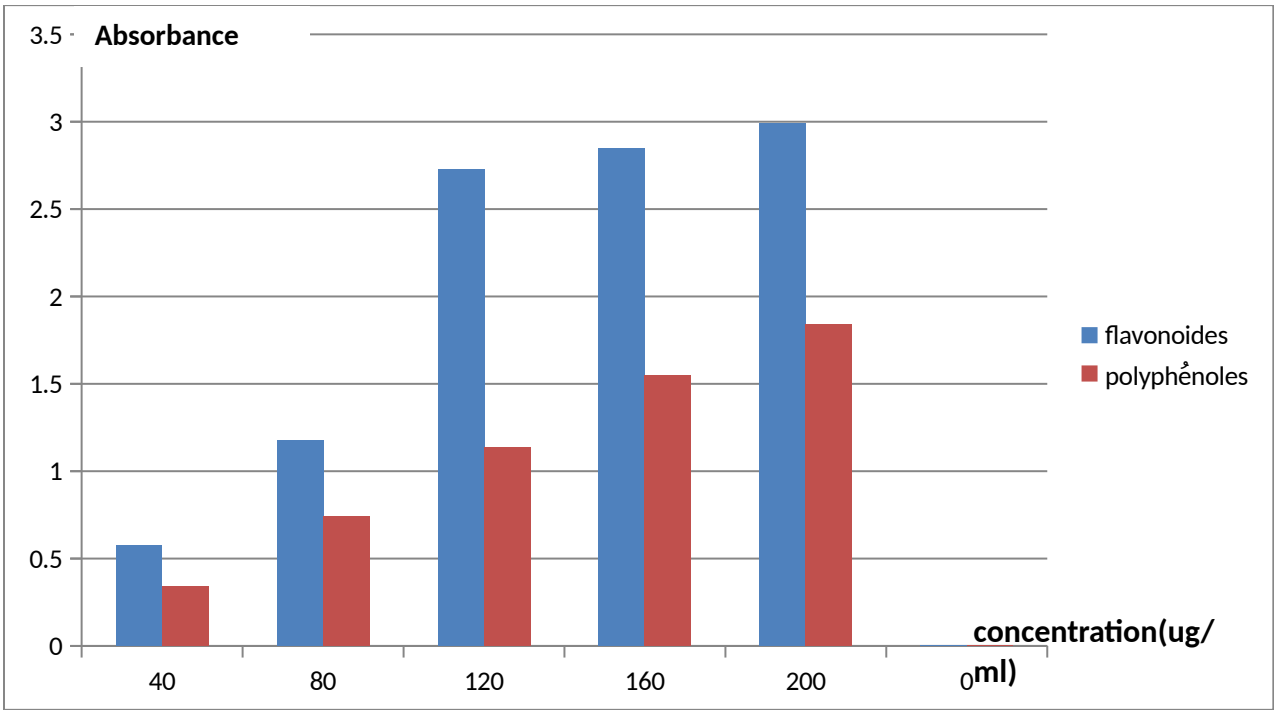


Figure 12: évaluation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans l'huile essentielle *citrus aurantuim* en fonction de la concentration.

5.Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite du zeste de *Citrus aurantium* a été évaluée vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes à Gram positif et à Gram négatif. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 04**. D'après les données recueillies, il apparaît que parmi l'ensemble des souches bactériennes testées, seules deux souches ont montré une sensibilité à l'huile essentielle de *Citrus aurantium*, à savoir *Proteus mirabilis* et *Enterobacter* sp. Les autres souches se sont révélées résistantes.

Proteus mirabilis a été la plus sensible à l'huile essentielle. Le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration de 50 %, avec une valeur de 16,00 ± 1,00 mm, suivi de 14,50 ± 0,50 mm à 25 % et de 13,17 ± 2,02 mm à 100 %. En revanche, le diamètre d'inhibition le plus faible pour cette souche a été observé à 12,5 %, avec une valeur de 8,00 ± 0,00 mm. Nous avons enregistré que chez *Proteus mirabilis*, l'huile essentielle diluée à 50 % a produit une inhibition plus importante que l'huile pure (100 %). Cette observation peut être

attribuée à une meilleure diffusion des composés actifs dans le milieu gélosé en présence du DMSO utilisé comme diluant.

Concernant *Enterobacter* sp., l'activité antibactérienne observée a été plus faible. Le diamètre d'inhibition maximal a été obtenu à 100 %, avec une valeur de 11,00 ± 1,00 mm, tandis que le diamètre minimal a été enregistré à 3,12 %, avec 8,67 ± 0,58 mm. Les diamètres d'inhibition obtenus aux différentes concentrations sont restés relativement proches, variant entre 8,67 et 11,00 mm.

Bien que le mécanisme exact de l'activité antibactérienne des huiles essentielles ne soit pas encore totalement élucidé, il est généralement admis que les bactéries à Gram négatif présentent une sensibilité légèrement plus faible que les bactéries à Gram positif (**Azhdarzadeh et Hojjati, 2016**). Cependant, ce résultat ne correspond pas totalement à nos observations, où une résistance a été enregistrée chez les bactéries à Gram positif testées. Cette différence s'explique par la présence, chez les bactéries Gram négatif, d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides, qui agit comme une barrière et limite la pénétration des composés hydrophobes des huiles essentielles.

Tableau04 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *C.aurantium* vis à-vis des bactéries pathogènes.

	100%	**50%**	**25%**	**12.5%**	**6.25%**	**3,12%**
Proteus mirabilis	13,17 ±2,02	16,00 ± 1,00	14.5 ±0,50	8 ± 0,00	10,00 ±0,00	10,00 ±0,00
Pseudomonas aeruginosa	-	-	-	-	-	-
Enterobacter sp	11,00 ± 1,00	10,00 ± 1,00	9.5 ± 0,50	9,00 ± 0,00	9.17 ± 1,04	8,67± 0,58
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli ATCC 25922	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	-	-	-	-	-	-

L'absence d'activité observée contre certaines souches, notamment *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, pourrait s'expliquer par la présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides et par des systèmes d'efflux limitant la pénétration et l'accumulation des

composés terpéniques dans la cellule bactérienne **(Nazzaro et al., 2013 ; Breidenstein et al., 2011)**

.Hsouna et al. (2013) ont mis en évidence une activité inhibitrice de l'huile essentielle de fleurs de *Citrus aurantium* contre différentes bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif. Les auteurs ont rapporté des diamètres d'inhibition compris entre 14 et 22 mm, les souches les plus sensibles étant *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* ont montré une sensibilité plus faible.

Sharifi-Rad et al. (2020) ont souligné que *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie Gram négatif particulièrement résistante, présente une faible sensibilité aux huiles essentielles du genre *Citrus*, ce qui est attribué à la combinaison d'une membrane externe peu perméable et de pompes à efflux de type RND. Ces mécanismes contribuent à limiter la pénétration des composés terpéniques et expliquent la tolérance élevée de cette espèce vis-à-vis de nombreux agents antimicrobiens naturels.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* est principalement liée à l'action de ses composés terpéniques, tels que le limonène, le β-pinène et le linalol. Ces composés peuvent perturber la membrane cellulaire des bactéries en augmentant sa perméabilité, ce qui entraîne une fuite des constituants cellulaires essentiels. Ils peuvent également inhiber certaines enzymes impliquées dans la respiration cellulaire et perturber la synthèse des protéines nécessaires à la croissance et à la survie des bactéries. L'ensemble de ces mécanismes contribue à l'effet inhibiteur de l'huile essentielle sur les microorganismes **(Bakkali et al. ; Bouyahya et al., 2021 ; Zengin & Baysal, 2021)**

conclusion

Conclusion et Perspective

Face à l'intérêt croissant accordé aux substances naturelles d'origine végétale, les huiles essentielles apparaissent aujourd'hui comme des alternatives prometteuses grâce à leurs nombreuses propriétés biologiques. C'est dans cette perspective que notre travail a été consacré à l'étude des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle extraite des zestes de *Citrus aurantium (*bigaradier), une espèce largement répandue et valorisée dans les régions méditerranéennes.

L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement satisfaisant, témoignant de la richesse des zestes en composés volatils. Les dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont révélé la présence de métabolites secondaires reconnus pour leur implication dans plusieurs activités biologiques d'intérêt.

L'évaluation du pouvoir antioxydant par le test du DPPH a mis en évidence une capacité de l'huile essentielle à piéger les radicaux libres et à limiter les phénomènes d'oxydation. Cette activité peut être attribuée à la présence de composés bioactifs capables de participer à la protection des systèmes biologiques contre les effets néfastes du stress oxydatif.

Par ailleurs, les résultats obtenus lors de l'étude de l'activité antibactérienne ont montré que l'huile essentielle exerce un effet inhibiteur limité aux souches *Proteus mirabilis* et *Enterobacter* sp., tandis qu'aucune activité n'a été observée contre les autres bactéries testées. La sensibilité de ces deux souches varie en fonction de la concentration de l'huile essentielle. Ces résultats mettent en évidence une activité antibactérienne sélective de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* et suggèrent que ses constituants bioactifs peuvent agir efficacement contre certaines bactéries pathogènes, tout en soulignant la variabilité de leur efficacité selon les espèces bactériennes étudiées.

Ainsi, les résultats obtenus au cours de cette étude permettent de conclure que l'huile essentielle des zestes de *Citrus aurantium* constitue une source naturelle intéressante de molécules biologiquement actives. Son activité antioxydante ainsi que son pouvoir antibactérien lui confèrent un intérêt particulier pour d'éventuelles applications dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique.

ce travail représente une contribution à la valorisation du bigaradier. Toutefois, des études complémentaires demeurent nécessaires afin d'approfondir la caractérisation chimique de

cette huile essentielle, notamment par des techniques analytiques plus avancées telles que la chromatographie liquide haute performance (HPLC), permettant une identification et une quantification plus précises des composés bioactifs responsables de ses activités biologiques. Il serait également intéressant d'évaluer son potentiel antioxydant à l'aide d'autres méthodes complémentaires, telles que les tests FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), ABTS ou encore le pouvoir réducteur, afin d'obtenir une évaluation plus complète de ses propriétés antioxydantes. Par ailleurs, l'étude de son activité antimicrobienne pourrait être étendue à un plus large éventail de microorganismes pathogènes, en incluant notamment des champignons d'intérêt médical ou alimentaire, afin d'évaluer son activité antifongique. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB) constituerait également une étape importante pour mieux apprécier son efficacité biologique et ses perspectives d'application.

Références bibliographiques

A

Aziz ZAA, Ahmad A, Setapar SHM, Karakucuk A, Azim MM, Lokhat D, Rafatullah M, Ganash M, Kamal MA, Ashraf GM. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. Curr Drug Metab. 2018

Ahmed, N., et coll. (1993). Huiles essentielles : leurs propriétés médicinales et aromatiques. Dans Arômes et parfums : Sources naturelles et synthétiques (pp. 275-307). Springer, Boston, Massachusetts

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.

Ashmawy, N.S., Nilofar, N., Zengin, G. *et al*. Metabolic profiling and enzyme inhibitory activity of the essential oil of *citrus aurantium* fruit peel. *BMC Complement Med Ther* **24**, 262 (2024). https://doi.org/10.1186/s12906-024-04505-2

Azhdarzadeh, F., & Hojjati, M. (2016).*Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (Citrus aurantium) essential oils.* Journal of Essential Oil Bearing Plants, 19(5), 1224–1233. https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1223332

B

Boudjedjou, O. (2020). Les mécanismes de protection contre le stress oxydatif. In Les maladies chroniques et le vieillissement (pp. 215-238). Presses Universitaires de Franche-Comté.

Belakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Ibis presse, Paris, France, 764p

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. Food Chem. Toxicol., 46, 446-475.

Belghorzi D.A., Khelifa W. (2022). 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. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

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.

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.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M. (2008). *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.

Benkaddour, S. & Attar, K. (2020). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits brutes et de l'huile essentielle du Citrus aurantium. Mémoire Master, C.U.B.B.A.T, Aïn-Témouchent

Brixi Gormat, N. et al. (2015). Physico-chemical characteristics and antioxidant activity of phenolic compounds of Citrus aurantium seeds from Northwest Algeria. International Journal of Phytomedicine, 7, 370–378.

Breidenstein, E. B. M., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R. E. W. (2011). *Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance.* Trends in Microbiology, 19(8), 419–426. https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005

Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier, Paris.

C

Carange, J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection? (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières)

CERDAGNE, I. (2004). L'oranger amer : Citrus aurantium var. amara Link. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges, France

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. Lavaur, France, 20p

D

Deterre, S. (2012). Influence des étapes de production du parfum issu des écorces d'orange amère (Citrus aurantium L. sspamara) sur la qualité aromatique (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).

E

ENCYCLOPEDIE ENCARTA, (2006).

F

Fettah, M. (2019). Le stress oxydatif et les radicaux libres. Editions Med-Com.

Favier, A. (2006, November). Stress oxydant et pathologies humaines. In Annales pharmaceutiques françaises (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

Fugh-Berman, A., & Myers, A. (2004). Citrus aurantium, an ingredient of dietary supplements marketed for weight loss: current status of clinical and basic research. Experimental biology and medicine, 229(8), 698-704.

Farhat., M.A., Meklati, B.Y., Chemat, F., 2010. Citrus D9Algérie les huiles essentielles et leurs procèdes d9extractions Office des publications universitaires ed.

Foe, F. M. C. N., Tchinang, T. F. K., Nyegue, A. M., Abdou, J. P., Yaya, A. J. G., Tchinda, A. T., ... & Etoa, F. X. (2016). Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. BMC complementary and alternative medicine, 16(1), 117.

G

Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., Debraux, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française. Tome I, éd. Vigot Frères, Paris, 682p.

Girre, L. (1992). La santé par les plantes. Ed. Ouest-France, Rennes, France, 222p

Gontier, J. (2000). L'oranger. Ed. Actes Sud, Arles, France, 89p.

Girre, L. (1995). Les plantes médicinales. Ed. Ouest-France, Rennes, France, 32p.

Ghasemi, K., Ghasemi, Y. & Ebrahimzadeh, M.A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species. Pak J Pharm Sci, 22(3), 277–281.

H

Hellal, Z. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri) ;2011

Hadjdjilani, N., Haouet, S., et Baali, F. (2022). Essential oil composition and biological activities of Lavandula dentata L. from Algeria. Journal of Ethnopharmacology, 286, 114652.

Hadrich, B., Dahak, K., Abdenouri, N., &Kechaou, N. (2009). Etude de séchage des

feuilles de bigaradier. Revue des énergies renouvelables, 145-149

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. Food Chemistry, 123(4), 1098-1104

Hsouna, A. B., Hamdi, N., Ben Halima, N., & Abdelkafi, S. (2013).
Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Oleo Science*, **62**(10), 763–772.
https://doi.org/10.5650/jos.62.763

K

Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles: Qualitologie et aromathérapie: entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie pratique, Springer-Verlag, Paris, France.

KORICHI, K. C., & MAHCEN, R. Mise en valeur de la plante Géranium rosa de la région d'Ouargla (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA).

L

Lagha-Benamrouche, S. & Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties cultivated in Algeria. Industrial Crops and Products, 50, 723–730.

M

MESSAOUDI S., (2005). Les plantes médicinales. Editions du DAR EL FIKER, Tunis, 496p

Maksoud, S., Abdel-Massih, R. M., Rajha, H. N., Louka, N., Chemat, F., Barba, F. J., & Debs, E. (2021). Citrus aurantium L. Active Constituents, Biological Effects and Extraction Methods: An Updated Review. Molecules, 26(19), 5832.

N

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). *Effect of essential oils on pathogenic bacteria.* Pharmaceuticals, 6(12), 1451–1474.

https://doi.org/10.3390/ph6121451

o

Ouedrhiri W., Bouhdida S., Balouiria M., El Ouali Lalami A., Moja M., Ouazzani Chahdi F., Greche H. (2015). Chemical composition of Citrus aurantium L. leaves and zest essential oils. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(1), 78-84.

P

Peterson, J.J. et al. (2006). Flavanones in grapefruit, lemons, and limes. Journal of Food Composition and Analysis, 19, S74–S80.

S

Slougui, N., Mahfoud, H.M. (2017). Etude analytique comparative des huiles essentielles de quelques variétés de basilic cultivées pour la première fois dans diverses régions d'Algérie,Thèse de doctorat. UniversitéKasdiMerbah-Ouargla.Algérie.

Suryawanshi, J.A.S.(2011). An overview of Citrus aurantium used in treatment of various diseases. Afr. J. Plant Sci. 5, 390-395.

Schauenberg, P. (1977). Le guide des plantes médicinales. 3éme édition, Ed. Delachaux et Nestlé, Paris, France, 396p

T

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). Activités antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de Citrus aurantium L. tunisien. IOSR-JESTFT, 8, 18-27.

W

Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W. (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from Rosmarinus officinalis L. leaves determined by DPPH assays. ComptesRendus Chimie, 19(6), 754-765.

Annexes

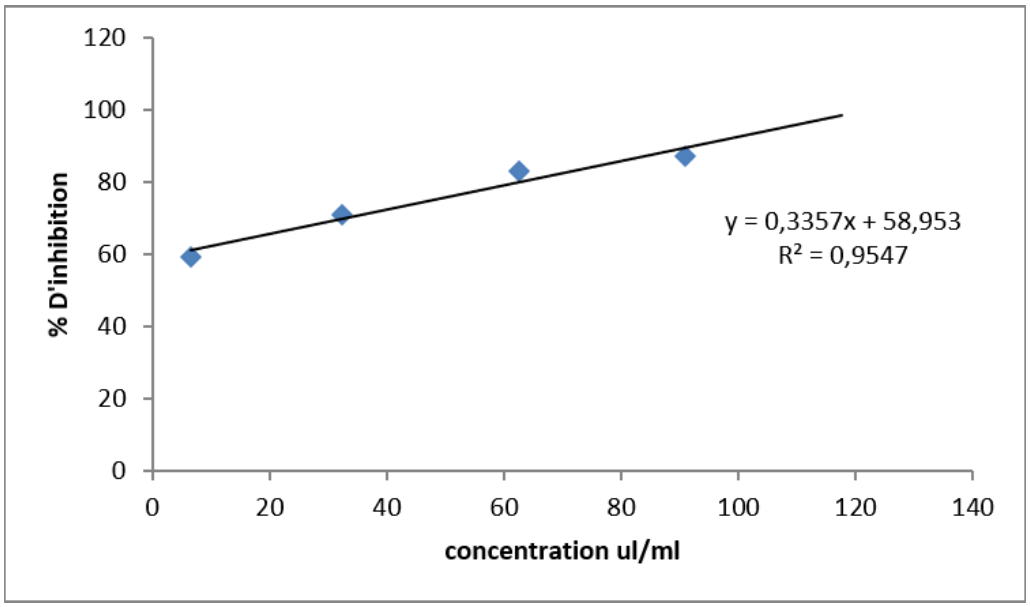


Figure01 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de *Citrus aurantium*

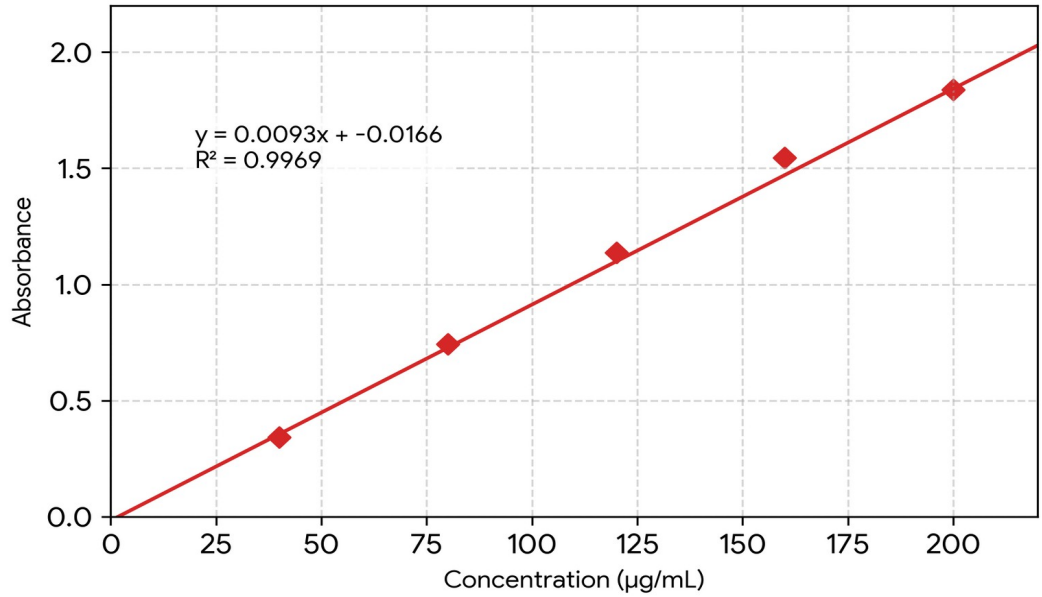


Figure 02: Courbe d'étalonnage des Polyphénols

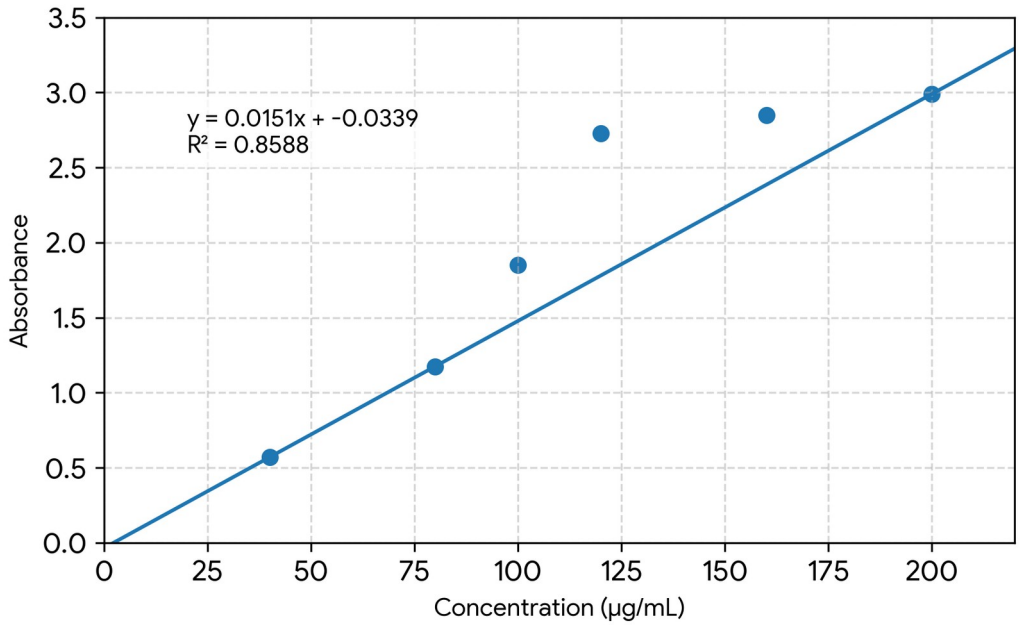


Figure 03: Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes