

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimique

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**Master**

En Biologie

Option : **Pharmacologie Moléculaire**

**Thème**

Analyse du caryotype et évaluation de l'activité  
antioxydant des huiles essentielles de  
*Citrus limon* et *Citrus aurantium*.

Présenté par :

**BADJI Nadjat**

**Devant le jury :**

Président : **M<sup>me</sup> AMROUCHE W.**

Promotrice : **D<sup>r</sup> KHETTAL B.**

Examineurs : **ADJAOUT A.**

**TACHERFIOUT M.**

Année 2011-2012

# Remerciements

*En premier lieu, je remercie Dieu tout puissant qui ma gardé en bonne santé afin d'achever ce modeste travail.*

Ce travail a été réalisé au sein de l'équipe dirigé par **Dr KHETTAL B.** (Maitre de conférence) du laboratoire de recherche de biotechnologie végétal et ethnobotanique.

Je tiens à remercier ma promotrice, **D<sup>r</sup> KHETTAL B.**, pour l'honneur qu'elle m'a fait en m'encadrant. Je vous exprime, mademoiselle, toute ma gratitude pour tous vos efforts, votre compréhension, votre disponibilité et vos précieux conseils qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements les plus sincères et les plus profonds sont adressés aux membres de jury ;

**M<sup>me</sup> AMROUCHE** : qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

**M<sup>r</sup> ADJAOU** : d'avoir accepté d'examiner mon travail.

**M<sup>r</sup> TACHERFIOUT** : d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Ma gratitude va également au professeur **M<sup>r</sup> SAHNOUNE M.** et **Melle BEN MOUHOUB H.** en raison de leurs aides et leurs conseils très précieux pour la réalisation du caryotype.

Je tiens également à remercier chaleureusement la technicienne du laboratoire d'enzymologie, **Melle BELHADI Saida** pour sa disponibilité, son aide, sa compréhension mais particulièrement son soutien morale.

A travers ce modeste travail, je tiens à remercier l'ensemble des enseignants qui ont contribué de près ou de loin à ma formation, qu'ils retrouvent à travers ces lignes l'expression de ma grande reconnaissance.

Enfin, mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

**Melle BADJI Tafat .N.**



*Louange à Allah, le miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bien fais,  
je lui rends grâce.*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents que j'adore Khelifa et Nadia, pour leur affection, leur  
soutien, leurs efforts et sacrifices qu'ils ont entrepris afin de me voir  
réussi.*

*Mes frères angéliques: Karim, Nafa (sa fiancée Sonia) et le grand Salem  
pour leurs conseils et encouragements.*

*L'amour de ma vie : mon cher et tendre mari*

*Sofiane CHEMIROU*

*pour sa patience, son aide et le bonheur qui m'apporte tous les jours.*

*Honorablement à mon professeur Dramaturge ATMANI Mokhtar*

*Ma belle famille, grands et petits, surtout à mon adorable belle mère*

*Mamiche*

*Mes grands parents, mes tantes, oncles, cousines et cousins*

*A toutes mes amies et surtout Wardouche, Bilouche, Doly,*

*Ouztata*

*A tous mes amis et surtout Amara, Tarik, Nassim, ,  
Madjid,Azdine*

*A toute la troupe théâtrale « Tagherma »*

*A toute ma Promo : Zina, Nadjat , Lynda,...*

*Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin surtout Sofiane et Saida*

## **SOMMAIRE**

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

Introduction.....  
.....01

### ***Synthèse bibliographique***

*Chapitre I : Etude botanique des  
citrus.....03*

I-1 Présentation des  
citrus.....03

I-1-1 Diversité des  
espèces.....04

I-1-2 Description morphologique des  
citrus..... 05

I-1-3 La structure des  
fruits.....07

I-2 Composition chimique et biochimique des  
citrus.....08

I-3 Applications des citru.....10

I-3-1 Application nutritionnelle.....	10
I-3-2 Application thérapeutique.....	11
I-4 Pathologies et ravageurs des agrumes du genre citrus.....	12
<i>Chapitre II : huiles essentielles du citrus.....</i>	<i>16</i>
II-1 Généralités .....	16
II-2 Extraction des Huile essentielles.....	18
II-2-1 Méthodes d'extractions classiques.....	18
II-2-2 Comparaison entre les techniques d'extraction.....	19
II-3 Composition chimique des huiles essentielles de citrus .....	20
II-4 Effet pharmacologique.....	24
II-4-1 Activité antioxydant.....	24
II-4-2 Activité anticancéreuse.....	25
II-4-3 Activité antibactérienne.....	25
II-4-4 Activité antifongique.....	26
II-5 Toxicité des huiles essentielle des citrus.....	26

### ***Travail expérimentale***

I- Matériel et méthodes.....	28
I-1 Matériel végétal .....	28
I-2 Analyse du caryotype .....	29
I-3 Etudes de l'activité anti-oxydantes des huiles essentielles.....	31
I-3-1 Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	31
I-3-2 Détermination de l'activité antioxydant .....	31
I-3-2-1 Activité scavenger du radical libre DPPH.....	31
I-3-2-2 Activité scavenger du radical ABTS .....	33
I-3-2-3 Pouvoir réducteur .....	35
I-3-3 Activité inhibitrice de la peroxydase .....	36

II- Résultats et discussion.....	38
II-1 Caryotype des citrus.....	38
II-2 Quelques caractéristiques des fruits des espèces <i>C. limon</i> et <i>C. aurantium</i> .....	39
II-3 Rendement en huiles essentielles du <i>Citrus limon</i> et du <i>Citrus aurantium</i> .....	39
II-4 Activité antioxydant.....	42
II-4-1 Activité Scavenger du radical DPPH.....	44
II-4-2 Activité scavenger du radical cation ABTS.....	45
II-5 Pouvoir réducteur.....	48
II-6-Activité anti-peroxydase.....	48
Conclusion .....	50

*Liste des références*

*Annexes*

# Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Coupe transversale de fruit de citrus.(Orange)	8
02	Structure schématique d'une Poche sécrétrice schizolysigène	17
03	<i>Citus limon (à gauche) et Citrus aurantium (à droite)</i>	28
04	photo des graines de <i>Citrus limon(haut), Citrus aurantium (bas)</i>	29
05	Photos de germination de <i>Citrus limon</i>	29
06	La réaction du réduction du radical DPPH	32
07	Formation et piégeage du radical ABTS	34
08	Coupe histologique au stade métaphasique du méristème du <i>Citrus aurantium</i> observé au microscope optique (*100) après coloration à l'orcéine.	38
9	Coupe histologique au stade métaphasique du méristème du <i>Citrus limon</i> observé au microscope optique (*100) après coloration à l'orcéine.	38
10	Evaluation de l'activité scavenger du radical DPPH en fonction des quantités des huiles essentielles de <i>Citrus limon (à gauche) et de Citrus aurantium (à droite)</i> .	42
11	cinétique de réduction du DPPH à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>C. limon</i> .	44

12	Cinétique de réduction du DPPH à différentes quantités de l'huile essentielle	44
13	Effet scavenger contre le radical ABTS <sup>·+</sup> à différentes concentrations d'huiles essentielles de <i>Citrus limon</i> (à gauche) et <i>Citrus aurantium</i> (à droite)	45
14	Effet scavenger du radical ABTS <sup>·+</sup> en fonction du temps à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Citrus limon</i> .	47
15	Effet scavenger du radical ABTS <sup>·+</sup> en fonction du temps à différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Citrus aurantium</i> .	47
17	L'évolution du pouvoir réducteur de l'huile essentielle de <i>Citrus limon</i> et de <i>Citrus aurantium</i> avec l'augmentation de la concentration	48
18	Cinétique de la peroxydase en absence et en présence de 5µl/ml d'huile essentielle de <i>citrus limon</i> .	49
19	Cinétique de la peroxydase en absence et en présence de 5µl/ml d'huile essentielle de <i>citrus aurantium</i> .	49

# *INTRODUCTION*

## Introduction

Depuis toujours les plantes ont constituées la source majeure de médicaments grâce à leurs richesses en métabolites secondaires. Parmi ces métabolites secondaires qui ont démontrés des activités biologiques et reçu une attention particulière comme agent potentiel curatif sont les composants des huiles essentielles. Il s'agit majoritairement de molécules de taille et de masse faible, Elles sont généralement dominés par des composés mono ou sesquiterpénique, et plus rarement diterpéniques et parfois par des phénylpropanoïde. Les huiles essentielles sont connues pour être douées particulièrement de propriété antiseptique et antimicrobienne. Beaucoup d'entre elles ont des propriétés antivirales, antitoxiques antivenimeuses et plus récemment en leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

Les espèces de genre Citrus ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques en tant que sédatifs, analgésiques, antiarythmiques, stomachiques, anti-inflammatoires et anti-rhumatismes. Les huiles essentielles de citrus ont été rapportées pour avoir des propriétés antimicrobiennes, antioxydants, antifongiques, antidépresseur et anti cancéreuses, en raison de leur utilisation dans le cosmétique, l'industrie pharmaceutique et en agroalimentaire. (Chutia et *al.*, 2009 ; Kamal et *al.*, 2011 ; Medjnouni et *al.*, 2012).

Dans ce contexte de valorisation biotechnologique des huiles essentielles de citrus que s'inscrit la thématique du sujet présenté dans ce mémoire.

La thématique dans l'équipe dirigée par le D<sup>r</sup> KHETTAL B. de laboratoire de recherche biotechnologie végétale et ethnobotanique, et dont l'objectif est la valorisation des substrats actifs d'origine végétale dans le domaine de la pharmacologie, cosmétique, agroalimentaire.

Le sujet de ce travail porte sur l'étude de caryotype des espèces de citrus et l'évaluation des activités antioxydants de deux espèces de citrus d'origine locale « *citrus limon* et *citrus aurantium* » espèces qui sont cultivées au parc de l'INRA de Oued-Ghir ( Béjaia)

# *CHAPITRE I*

## *ETUDE BOTANIQUE DES CITRUS*

## I-1 Présentation des citrus

Le genre citrus regroupe les plantes de la grande famille des Rutaceae (Tableau N° I). Les arbres de genre citrus donnent les fruits que nous connaissons sous le nom d'agrumes, terme provenant du terme latin « acrumen » signifiant « saveur acre », en raison de la présence de l'acide acétique qui leurs confère l'âcreté qui les caractérisent (Haineault, 2011). Les citrus s'identifient par leur appareil sécréteur constitué par des poches sécrétrices particulières dites schizolysigènes. Ces poches, toujours superficielles, sont d'origine épidermique. Il suffit de les écraser légèrement pour qu'une forte odeur d'essence s'en dégage (Harley, 2006).

Les citrus sont probablement originaires du Sud-Est asiatique, des enterrages de l'Himalaya. Les arbres de citrus se distribuent dans les régions intertropicales où la température est constante (20°C 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 av. J.-C. (Harley et al., 2006 ; Bachèse et Bachèse, 2011)

Il y a incertitude au sujet de la date de l'introduction des variétés du genre citrus dans la zone méditerranéenne. (Luro et al, 2012). Il est probable que le Bigaradier ou l'oranger amère fut connu au X<sup>e</sup> siècle ; le citronnier de race de cédrat au XII<sup>e</sup> siècle (Bachèse et Bachèse, 2011) ; l'oranger doux au XIV<sup>e</sup> siècle et le mandarinier, le pamplemoussier au XIX<sup>e</sup> siècle. Quant au clémentinier, c'est un hybride entre l'oranger et le mandarinier obtenu par le père Clément en Algérie. (Trabut, 1926).

**Tableau N° I :** Classification du genre *Citrus* (Cronquist, 1988 ; Kimball, 1999).

	Selon Kimball (1999)	Selon Cronquist (1988)
Règne	Végétal	Plantae
Sous règne	Tracheobionta	Tracheobionta
Division	Embryophyta	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Ordre	Géraniales	Sapindales
Famille	Rutaceae	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>	<i>Citrus</i>
Espèces	<i>C. aurantifolia</i> , <i>C. limon</i> ,	<i>C. maxima</i> , <i>C. indica...etc</i>

### I-1-1 Diversité des espèces

Le genre *citrus* est subdivisé en deux sous-genres: *Citrus (Eucitrus)* et *Papeda*, la différence étant la présence de gouttelettes d'huile amère dans les vésicules de pulpe de *Papeda*. Le sous-genre *Papeda* regroupe des espèces aux fruits petits et très acides souvent non comestibles (Harley, 2006). Pour le sous genre *citrus* on y retrouve : *C. aurantiifolia* ([limettier](#)), *C. limon*, *C. indica*, *C. maxima* ([Pamplemoussier](#)), *C. medica* ([Cédratier](#)), *C. reticulata*... etc

Chez tous les *citrus* le nombre de chromosomes de base est  $n=9$  (Krug, 1943). La grande majorité d'entre eux sont diploïde et leur génome est relativement petit environ  $0,4 \cdot 10^8$  pb (Luroi, 1994). Cependant, une variation de tailles significative suivant les espèces a été déterminée par Ollitrault et Michaux-Ferrière (1992). Celles-ci atteignent 10 % entre les mandariniers et les cédratiers (respectivement 0,72 pg et 0,82 pg, soit  $3.3 \cdot 10^8$  pb  $3.7 \cdot 10^8$  pb).

Les espèces du genre *Citrus* se distinguent par leur très grande facilité à s'hybrider entre elles (tableau N°II). Elles ont toutes été croisées entre elles à des degrés divers à travers le temps (Bachèse et Bachèse, 2011). Une certaine variation peut parfois se produire dans les bourgeons, des mêmes arbres greffés, par des mutations normales. (Harley et *al.*, 2006).

**Tableau N°II** : Exemple de quelques hybrides de *citrus*.(Bachèse et Bachèse, 2011).

Le nom de l'hybride	Les parents de croisement	
<i>C.tangerina</i> Tanaka la tangerine	<a href="#">Citrus reticulata</a> X <i>Citrus aurantium</i>	
<i>Tangelo</i>	<i>Pomelo</i> X <i>Tangerine</i>	
<i>Citrus clementina</i>	<i>Citrus reticulata</i>	<i>Citrus sinensis</i>
Lemonime	C. limon	X C. aurantiifolia

En fonction des différentes études taxonomiques, leurs nombre exacte d'espèces est fortement variable. L'étude la plus récente basée sur l'analyses d'enzymes, a permis de mettre une taxonomie dans laquelle le sous-genre *citrus* comprend quatre espèces qui sont à l'origine de toutes les autres par mutation

naturelle : deux d'origine tropicale, *Citrus halimii* et *Citrus maxima* (pamplemousse), et deux subtropicales, *Citrus medica* L. (Cédrat) et le *citrus reticulata* (mandarin). (Alvarez, 2005)

Chaque espèce se décline en une multitude de variétés cultivées : plus de 1000 pour les orangers, près de 500 pour les mandarines,...etc (Bachès et Bachès, 2011).

### **I-1-2 Description morphologique des citrus**

Les citrus sont des arbustes ou des arbres de taille moyenne de 3 à 12 m de hauteur. La plupart des espèces ont un tronc unique au bois très dur (Harley et al, 2006) avec une écorce mince, lisse et gris-marron à verdâtre. Les rameaux possèdent une frondaison dense. Il y a plusieurs poussées de végétation dans l'année, la plus importante étant celle du printemps. Les rameaux sont assez souvent couverts d'épines (Polese, 2008). Les *Citrus* ont des feuilles entières et persistantes, ces feuilles ont une durée de vie limitée et les chutes interviennent naturellement à l'automne et au printemps quand de nouvelles pousses apparaissent. (Bachès et Bachès, 2011). Les fleurs, sont généralement de couleur blanche, possèdent de 4 à 5 pétales imbriqués, et sont souvent recourbés vers l'arrière (Tableau III). Selon les espèces, la floraison en grappe ou en fleur isolée est très abondante. L'époque de floraison varie de mars à juillet selon les espèces et le climat. La pollinisation est assurée par le vent et les insectes. (Polese, 2008 ; Bachès et Bachès, 2010).

Les fruits de citrus sont tous des fruits Hespéride, une baie charnue et indéhiscence. Ce qui différencie les espèces sont: la taille qui varie de 4 à 25 centimètres, la couleur (jaune pour le *C.limon*, orange pour le *C.aurantium*) et la forme. (Tableau N° III) Les citrons sont en général oblongs, les mandarines sont aplaties aux pôles alors que les oranges sont rondes. Le jus des pulpes des agrumes peut être acide, c'est le cas du jus de *C.limon* ou acide et amère comme pour le *C.aurantium* (Harley et al, 2006).

Les graines des citrus sont de couleur blanchâtre à verdâtre pâle, aplatie, et angulaire. Elles sont généralement polyembryonnaires comme dans les cas de *Citrus aurantium*, ce qui signifie qu'elles ont plusieurs embryons qui peuvent germer. Les embryons sont soit Zygotiques, dérivent de la pollinisation de l'ovaire par reproduction sexuée, soit Nucellaire, provenant entièrement à partir de la plante mère et présentent des caractéristiques très similaires à la plante mère. (Harley et al ,2006 ; Polese, 2008).

**Tableau N° III :** Description de quelques espèces de citrus. (Harley et *al.*, 2006 ; Bachès et Bachès, 2011 ; Haineault, 2011)

Espèce	nom commun	Taille de l'arbre	Couleur du fruit	Forme du fruit	La pulpe	épines
<i>C. aurantifolia</i>	Chaux (Limettier)	4 m	Vert, jaune verdâtre	petite taille sub-globuleux ou ovales	juteuse, très acide	Sans épines
<i>C. aurantium</i>	Bigaradier (Orange amère)	10 m	Rouge Orange	Taille moyenne à peau rugueuse, ronds ou ovale	acide et amère	à court épines
<i>C. paradisi</i>	Pomelos (grappfruit)	12 m	Jaune ou rosée	Fruits en grappe à écorce lisse	tendre, juteuse, légèrement amère	Sans épines
<i>C. hystrix</i>	Lime, (ombava)	3à4 m	Verdâtre	Petit, ronds	Acide amère	court épines
<i>C. limon</i>	Citronnier	6 m	Verdâtre, jaunâtre	Moyens à grand, ovoïdes	fine, juteuse, acide	demi-épines
<i>C. bergamia</i>	Orange sauvage	5 m	Jaune	Petite à moyenne, ronds, lisse	Juteuse, acide, amère	Peu épineux
<i>C. medica</i>	Cédrat (cédratier)	3 m	Jaunâtre	Très grand, ronds ou ovales	Presque pas de pulpe : acide amère	Plutôt épineux
<i>C. madurensis</i>	Calamondin	12 m	Orange	Petite taille ronds	Légèrement amères	Peu épineux
<i>C. grandis</i>	Pamplemousse	15 m	Jaune ou vert claire	Très Grand, aplatie ou piriforme	Grossière, faiblement amer	Sans épines
<i>C. reticulata</i>	Mandarin	9 m	Rouge orangé	globuleux souvent aplatis aux deux pôles	La chair sucrée, parfum	Le plus souvent épineux
<i>C. sinensis</i>	orange douce	12m	Orange, rougeâtre	Sub globuleux	juteuse sucré acidulé	souvent épineux découle

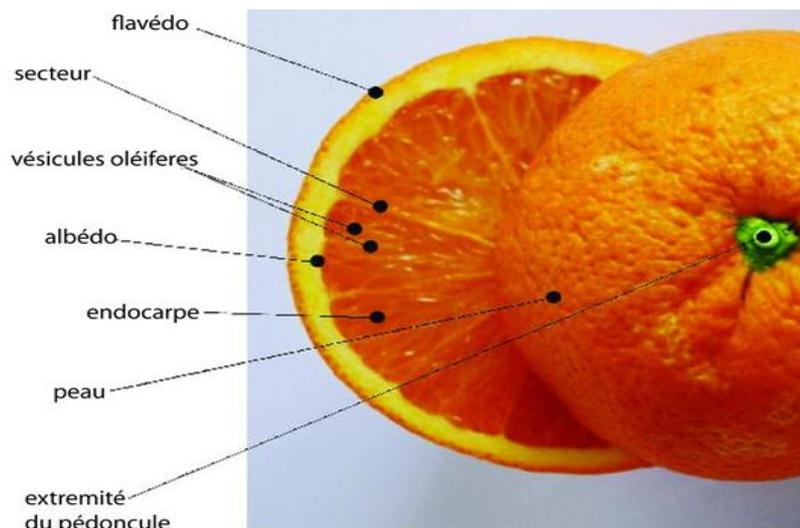
### I-1-3 La structure des fruits

Tous les citrus sont identiques dans la structure sauf quand il s'agit des dimensions et de la forme et de la couleur: Selon les espèces, les fruits mûrissent de novembre à mars. Le fruit est constitué d'une peau qui entoure une pulpe riche en eau (Figure N°1). La peau est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de (kimball, 1999; Polese,2008; Bachès et Bachès , 2011 ; Haineault , 2011) :

- **L'épiderme** : composé de cires épicuticulaires en forme de plaques. La quantité de cires dépend de la variété, des conditions climatiques et de la croissance.
- **Le Flavédo** : caractérisé par sa couleur jaune, verte ou orange. Il abrite les vésicules oléifères qui sont caractérisées par des parois très fines et fragiles qui renferment l'huile essentielle.
- **L'Albédo** : fait de cellules à structures tubulaires qui forment une véritable toile avec la plupart du volume tissulaire comprimé dans l'espace intercellulaire. L'épaisseur de l'albédo varie selon le type d'agrumes et le type de cultures. Il est très riche en flavonoïdes, responsable de l'amertume du jus.

La pulpe est formée de :

- **l'endocarpe** : des fruits avec les carpelles dans lesquelles se trouvent les vésicules contenant le jus, qui, d'un point de vue biosynthétique devrait être considéré comme le liquide relâché par le cytoplasme et par les vacuoles des cellules internes des vésicules (10 à 14 sections).
- **la Moelle** : la partie la plus interne du fruit est formée par un tissu spongieux similaire à celui de l'albedo.
- **la Navalisation** : correspond à la formation d'un autre petit fruit plus ou moins avorté, soit à l'intérieur soit repoussé l'extérieur, formant une protubérance comme on le rencontre chez l'orange navel.



**Figure N°01** : Coupe transversale de fruit de *Citrus sinensis* (Polese, 2008).

## I-2 Composition chimique et biochimique des citrus

Les espèces des Citrus présentent une différence dans leurs compositions en éléments nutritifs énergétiques (tableau IV). Ils sont considérés comme des fruits charnus, vu leur teneur élevée en eau qui varie entre 85.7% pour l'orange jusqu'à 91% pour le lime. (Souci et *al.* 1995 ; Virbal-Alonso, 2011). Les glucides sont les principaux constituants énergétiques des citrus, ils sont constitués principalement de saccharose, fructose et glucose. Les espèces les plus riches sont la mandarine et l'orange douce avec un taux de  $\approx 10\text{mg}/100\text{g}$  de fruits. Quant à la clémentine elle n'en contient que 0.2 mg par 100 g de fruits. Les fruits des citrus contiennent des polysaccharides complexes dont les plus abondants sont les pectines, au point que les principales sources industrielles de pectines sont les écorces de citron et d'orange. (Souci et *al.*, 1995 ; Haineault, 2011). Les citrus contiennent les protéides (0,7 à 1g /100 g de fruit), et à faible taux les lipides (0,2-0,6 g/100g de fruit), à l'exception du lime qui en contient plus (2,4g/100g) (Haineault, 2011). Les acides organiques, dont la majorité est formé d'acide citrique, avec de petites quantités d'acide malique sont plus ou moins abondants selon les variétés, mais leur teneur est généralement comprise entre 0,6 g et 1 g / 100 g de fruit : orange : 1,2 % ; pomelo : 1,9 % ; citron : 5 % ( Souci et *al.*, 1995 )

La vitamine C est la plus abondante, la clémentine est la plus riche avec 62 µg/100 g de fruit, suivie par le citron et l'orange qui contiennent respectivement 53/100g et 50 µg /100 g de fruit .

Les autres vitamines sont : la folacine, la vitamine B6, thiamine, Riboflavine et des composés de type vitaminique A.(Tableau N°V) (Virbal-Alonso, 2011 ; Haineault, 2011).

Une variété en substances minérales et d'oligo-éléments (Tableau N°VI) ont été identifiées dans les citrus, avec une teneur importante de potassium et de calcium. On y trouve aussi du magnésium, du fer, ainsi que du cuivre, du zinc, du manganèse, et différents oligo-éléments à l'état de traces. (Souci et al, 1995 ;Virbal-Alonso,2011 ).

Tableau N°IV : Composition biochimique des citrus (g/100g de fruit)(Haineault, 2011)

	citron	lime	mandarine	Orange	pamplemousse	clémentine
eau(g)	90,2	91	86,7	85,7	89	86,9
Fibre alimentaires(g)				2,2	0,6	1,4
protéines(g)	0,7	0,5	0,7	1	0,6	0,7
lipides(g)	0,6	2,4	0,3	0,2	0,2	0,2
glucides(g)	8,1	1,9	10	9,5	9,3	0,7

Tableau N°V : Composition des citrus en vitamines (mg/100g de fruit) (Haineault, 2011).

	Citron	lime	mandarine	orange	pamplemousse	clémentine
Vitamine E (mg)				0,24	0,25	0,55
Vitamine B1 (mg)	51	28	60	79	48	
vitamine B2 (mg)	20	20	30	42	24	
vitamine B3 (mg)	0,17	0,17	0,2	0,3	0,24	
vitamine B5 (mg)	0,27			0,24	0,25	
vitamine B6 (mg)	60		23	50	28	
vitamine B8 (mg)			0,5	2,3	0,4	26
vitamine B9 (mg)		43,5	7	24	11	0,3
vitamine C (mg)	53	43,5	30	50	44	62

**Tableau N°VI :** Composition en oligo-éléments des citrus ( /100g de fruit) (Haineault, 2011)

	Citron	lime	mandarine	orange	pamplemousse	clémentine
fer(g)	0,45	0,2	0,3	0,4	0,34	0,35
Sodium (mg)	2,7	2	1,2	1,4	1,6	
Magnésium (mg)	2,8		11	14	10	11
Potassium (mg)	149	82	210	177	180	145
Calcium (mg)	11	13	33	42	18	26
Nickel (microg)	16		3	10	10	

### I-3 Applications des citrus

#### I-3-1 Application nutritionnelle

Les nutritionnistes encouragent de manière général la consommation des citrus et de leurs jus. En effet les éléments nutritifs et non nutritifs qui contiennent différents composants phytochimiques. (Economos et Clay, 1999 ), les fruits du genre citrus sont classés parmi les fruits les plus désaltérants due à leur grande teneur en eau.(Souci et *al.*, 1995 ). Ils offrent aussi un apport énergétique élevé par rapport aux autres fruits ; 42 kcal/100g pour le citron, 45 kcal/ 100g en moyenne pour les autres espèces. Comme, ils représentent une source appréciable de calcium (entre 10 et 42 mg/ 100g de fruits), dont la bonne assimilation par l'organisme est facilitée par la présence d'acide citrique et de la vitamine C.(Virbal-Alonso,2011). Ils sont précieux à l'organisme qui doit surmonter ou prévenir des carences nutritionnelles, dans le cas de pathologie lié aux régime alimentaire l'obésité et de maladies métabolique croniques (Economos et Clay, 1999).

Les fruits de citrus restent la première source de jus due à leur pulpe juteuse, ils sont aussi exploités en agro-alimentaire pour préparer des marmelades, confiture, confiserie...etc (Virbal-Alonso, 2011)

### I-3-2 Application thérapeutique

L'utilisation traditionnelle des citrus dus à leurs propriétés thérapeutiques remonte au 5<sup>ème</sup>-4<sup>ème</sup> siècle avant JC. (Arias et Ramon-Laca, 2005). Les espèces les plus utilisées pour ces applications sont le citron et l'orange amère. Les guérisseurs traditionnels ont utilisé le citron comme antidote pour le traitement des morsures de serpent. Des études scientifiques, ont confirmé ce rôle d'antidote. En effet, Otero et *al.* (2000) ont démontré que l'extrait éthanolique de fruits mûrs de citron était actif contre les effets létaux et hémorragiques dus aux venins de *Bothrops atrox*.

D'autre part, il a été démontré que le citron a des effets antipyrétiques et des propriétés digestives, ainsi que des vertus dans la lutte contre nausées et perte d'appétit. Il a été démontré aussi des effets thérapeutiques comme hépatobiliaire, dyskinésie, oxiurasis, varices, hémorroïdes, phlébites, et urolithiase. (Arias et Ramon-Laca, 2005).

Le zeste d'orange amère (*C. aurantium*) renferme de la synéphrine et de la N-méthyltyramine, ce qui a donné lieu, à la création par des médecins chinois d'un produit pharmaceutique aux propriétés adrénergiques (action stimulante similaire à celle de l'[adrénaline](#)). En concentrant ces 2 substances grâce à un procédé d'[hémisynthèse](#), ils obtinrent un extrait qui était en fait un véritable médicament de la classe des [sympathomimétiques](#), employé contre les effets du choc [anaphylactique](#). L'extrait d'orange amère est une substance thermogène, il augmente le [métabolisme basal](#), il augmente ainsi la quantité de calories brûlées durant la journée en stimulant le système nerveux, de la même façon que l'adrénaline (Dionne, 2009).

Ces dernières années, les scientifiques se sont intéressés aux oligosaccharides pectiques des citrus (POS) en raison de leurs potentialités d'utilisation comme nouvelle génération de pré-biotiques. Certaines des qualités attribuées à ces oligosaccharides sont la protection contre le cancer du colon, une action antibactérienne, la répression de l'accumulation de lipide dans le foie, l'inhibition de l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales et la stimulation de la croissance des bifidobactéries et d'*Eubacterium rectale*. (Manderson et *al.*, 2005).

Le citron et l'orange amère possèdent une activité anticancéreuse, la chaux peut avoir un effet immunomodulateur, et le pomelo peut être utile pour traiter les problèmes circulatoires. (Arias *et al.*, 2005)

#### **I-4 Pathologies et ravageurs des agrumes du genre citrus**

Les pathologies des citrus sont nombreuses et beaucoup n'ont pas de traitements efficaces. Ces pathologies peuvent être d'origine virale, fongique, bactérien (tableau N°VII). Les symptômes sont variables et peuvent touchées l'arbre tout entier ou seulement le fruit. (Fajinmi *et al.*, 2011). Beaucoup n'ont pas de traitements efficaces mais un grand nombre d'entre eux peuvent être évités par une bonne préparation du sol à la plantation, plantation d'arbuste en bon état, irrigation et fertilisation bien contrôlés, bonne désinfection des outils et de l'arbre infectée. Les insectes aussi provoquent des pathologies du citrus (tableaux N°VII). Ils en causent d'énormes dégâts sur les cultures des agrumes. Le traitement chimique contre ces ravageurs n'est pas opérant. La lutte biologique avec les auxiliaires est la plus indiquée. (Benziane, 2003). En fin la carence en oligoéléments et minéraux est aussi une cause de maladies du citrus par exemple la *Chlorose en fer* est due a une carence en fer (Bachès et Bachès, 2011).

**Tableau N°VII** : Exemples de pathologie d'origine microbienne du citrus

Pathologie	Agent Causal	Symptômes	Ref.
Tristeza des agrumes ou virose des agrumes	Citrus Tristeza Virus (CTV)	Cannelures et des striures sur le tronc. Jaunissement, un arrêt de croissance et chute des feuilles. Réduction de la taille des fruits. Nécrose des vaisseaux du liber, tant dans la partie souterraine que dans la partie aérienne. A la fin, l'arbre dépérit et meurt	Bar-Joseph et al, 1989 ; Grisoni, 1996. ; Fajinmi et <i>al.</i> , 2011
Léprosis des agrumes	Citrus leprosis rhabdovirus	Lésions locales rondes à elliptiques avec centre nécrosique sur les feuilles, les rameaux et les fruits	Chagas & Rossetti, 1980; Bastianel et <i>al.</i> , 2010.
<a href="#">Maladie Stuborn des Citrus</a>	mycoplasma-like <i>Spiroplasma citri</i> .	Rameaux courts et coudés. Aspect de feuilles de saule. Le limbe a tendance à s'enrouler de chaque côté de la nervure médiane. Les feuilles deviennent chlorotiques et tombent. L'arbre se dégarnit peu à peu. Les <i>fruits</i> affectés sont glandiformes avec variation dans l'épaisseur de la peau En cas d'attaque grave, la pulpe est atteinte et devient aigre-amère avec une odeur désagréable	Fajinmi et <i>al.</i> , 2011
Ulcère de citron ou "chancre bactérien des agrumes"	<i>Xanthomonas Axonopodis</i>	petites taches translucides et lésions des feuilles, tiges, et fruit des arbres. Développement de pustules brun et liégeuses sur la tige des plantules, et éruptions Corky de différentes tailles peuvent se former sur le tronc et les rameaux. Eruptions verticalement et horizontalement, formant plaquettes rectangulaires.	Gottwald et <i>al.</i> , 2002.
		Ecorce du tronc prend une coloration foncée, se dessèche progressivement puis se détache et tombe en écaille. Exsudation	

Gommoses et pourriture fibreuse et pourriture brune	<i>Phytophthora parasitica</i> , <i>P. nicotianae</i> and <i>P. citrophthora</i>	de gomme au niveau du tronc et des branches. Boursoufflures sous l'écorce de l'arbre et des plaques transparentes jaune clair d'épaisseur variable sur l'écorce. Racines affaiblie fibreuses. Cortex des racines mou, légèrement décoloré à aspect visqueux. Décoloration marron clair des fruits avec mycélium blanc sur la surface.	Ricci et <i>al.</i> , 1990 ; Ippolito et <i>al.</i> , 2004.
Pourriture brune des cœurs du bois des citronniers	<i>Antrodia sinuosa</i> and <i>Coniophora eremophila</i>	Le premier symptôme évident est la mort des branches de citrus. Ces branches souvent sont partiellement cassées de l'arbre. Pourriture banche à l'intérieur du bois.	Matheron and <i>al.</i> , 2006
Pourriture molle des racines	<i>arrmillaria mellea</i>	Feuilles qui jaunissent (chlorose), flétrissent et tombent, dépérissement progressif de l'arbre. A l'intérieur de l'écorce de la racine, un mycélium blanc, feutré et disposé en éventail. Sur la surface de la racine, se forment des rhizomorphes violacés qui stimulent de petites radicelles; ils sont constitués par des faisceaux de filaments mycéliens dont la couche externe durcit et forme une carapace de couleur brun clair avec des écailles brunes	Guillaumin & Legrand 2005
Pourriture noire du Fruit	<i>Alternaria citri</i> et <i>Alternaria alternata.</i>	pourriture noire du fruit, décoloration noire des graines. Taches brunes circulaires sur le fruit, s'agrandissent, fusionnent et provoquent la pourriture des fruits et nécrose. Taches brune entourées d'un halo chlorotique sur les jeunes feuilles. .	Isshiki et <i>al.</i> , 2001

## I-1 Présentation des citrus

Le genre citrus regroupe les plantes de la grande famille des Rutaceae (Tableau N° I). Les arbres de genre citrus donnent les fruits que nous connaissons sous le nom d'agrumes, terme provenant du terme latin « acrumen » signifiant « saveur acre », en raison de la présence de l'acide acétique qui leurs confère l'âcreté qui les caractérisent (Haineault, 2011). Les citrus s'identifient par leur appareil sécréteur constitué par des poches sécrétrices particulières dites schizolysigènes. Ces poches, toujours superficielles, sont d'origine épidermique. Il suffit de les écraser légèrement pour qu'une forte odeur d'essence s'en dégage (Harley, 2006).

Les citrus sont probablement originaires du Sud-Est asiatique, des enterrages de l'Himalaya. Les arbres de citrus se distribuent dans les régions intertropicales où la température est constante (20°C 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 av. J.-C. (Harley et al., 2006 ; Bachèse et Bachèse, 2011)

Il y a incertitude au sujet de la date de l'introduction des variétés du genre citrus dans la zone méditerranéenne. (Luro et al, 2012). Il est probable que le Bigaradier ou l'oranger amère fut connu au X<sup>e</sup> siècle ; le citronnier de race de cédrat au XII<sup>e</sup> siècle (Bachèse et Bachèse, 2011) ; l'oranger doux au XIV<sup>e</sup> siècle et le mandarinier, le pamplemoussier au XIX<sup>e</sup> siècle. Quant au clémentinier, c'est un hybride entre l'oranger et le mandarinier obtenu par le père Clément en Algérie. (Trabut, 1926).

Tableau N° I : Classification du genre *Citrus* (Cronquist, 1988 ; Kimball, 1999).

	Selon Kimball (1999)	Selon Cronquist (1988)
<b>Règne</b>	Végétal	Plantae
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta	Tracheobionta
<b>Division</b>	Embryophyta	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Géraniales	Sapindales
<b>Famille</b>	Rutaceae	Rutaceae
<b>Genre</b>	<i>Citrus</i>	<i>Citrus</i>

<b>Espèces</b>	<i>C. aurantifolia</i> , <i>C. limon</i> ,	<i>C. maxima</i> , <i>C. indica...etc</i>
----------------	--	---

### I-1-1 Diversité des espèces

Le genre *Citrus* est subdivisé en deux sous-genres: *Citrus (Eucitrus)* et *Papeda*, la différence étant la présence de gouttelettes d'huile amère dans les vésicules de pulpe de *Papeda*. Le sous-genre *Papeda* regroupe des espèces aux fruits petits et très acides souvent non comestibles (Harley, 2006). Pour le sous genre *Citrus* on y retrouve : *C. aurantiifolia* ([limettier](#)), *C. limon*, *C. indica*, *C. maxima* ([Pamplemoussier](#)), *C. medica* ([Cédratier](#)), *C. reticulata...* etc

Chez tous les *Citrus* le nombre de chromosomes de base est  $n=9$  (Krug, 1943). La grande majorité d'entre eux sont diploïde et leur génome est relativement petit environ  $0,4 \cdot 10^8$  pb (Luroi, 1994). Cependant, une variation de tailles significative suivant les espèces a été déterminée par Ollitrault et Michaux-Ferrière (1992). Celles-ci atteignent 10 % entre les mandariniers et les cédratiers (respectivement 0,72 pg et 0,82 pg, soit  $3,3 \cdot 10^8$  pb  $3,7 \cdot 10^8$  pb).

Les espèces du genre *Citrus* se distinguent par leur très grande facilité à s'hybrider entre elles (tableau N°II). Elles ont toutes été croisées entre elles à des degrés divers à travers le temps (Bachèse et Bachèse, 2011). Une certaine variation peut parfois se produire dans les bourgeons, des mêmes arbres greffés, par des mutations normales. (Harley et al., 2006).

**Tableau N°II** : Exemple de quelques hybrides de *Citrus*.(Bachèse et Bachèse, 2011).

Le nom de l'hybride	Les parents de croisement	
<i>C.tangerina</i> Tanaka la tangerine	<a href="#">Citrus reticulata</a> X <i>Citrus aurantium</i>	
<i>Tangelo</i>	Pomelo X Tangerine	
<i>Citrus clementina</i>	<i>Citrus reticulata</i>	<i>Citrus sinensis</i>
<b>Lemonime</b>	C. limon	X C. aurantiifolia

En fonction des différentes études taxonomiques, leur nombre exacte d'espèces est fortement variable. L'étude la plus récente basée sur l'analyse d'enzymes, a permis de mettre une taxonomie dans laquelle le sous-genre *Citrus* comprend quatre espèces qui sont à l'origine de toutes les autres par mutation naturelle : deux d'origine tropicale, *Citrus halimii* et *Citrus maxima* (pamplemousse), et deux subtropicales, *Citrus medica* L. (Cédrat) et le *Citrus reticulata* (mandarin). (Alvarez, 2005)

Chaque espèce se décline en une multitude de variétés cultivées : plus de 1000 pour les oranges, près de 500 pour les mandarines, ...etc (Bachès et Bachès, 2011).

### **I-1-2 Description morphologique des citrus**

Les citrus sont des arbustes ou des arbres de taille moyenne de 3 à 12 m de hauteur. La plupart des espèces ont un tronc unique au bois très dur (Harley et al, 2006) avec une écorce mince, lisse et gris-marron à verdâtre. Les rameaux possèdent une frondaison dense. Il y a plusieurs poussées de végétation dans l'année, la plus importante étant celle du printemps. Les rameaux sont assez souvent couverts d'épines (Polese, 2008). Les *Citrus* ont des feuilles entières et persistantes, ces feuilles ont une durée de vie limitée et les chutes interviennent naturellement à l'automne et au printemps quand de nouvelles pousses apparaissent. (Bachès et Bachès, 2011). Les fleurs, sont généralement de couleur blanche, possèdent de 4 à 5 pétales imbriqués, et sont souvent recourbés vers l'arrière (Tableau III). Selon les espèces, la floraison en grappe ou en fleur isolée est très abondante. L'époque de floraison varie de mars à juillet selon les espèces et le climat. La pollinisation est assurée par le vent et les insectes. (Polese, 2008 ; Bachès et Bachès, 2010).

Les fruits de citrus sont tous des fruits Hespéride, une baie charnue et indéhiscente. Ce qui différencie les espèces sont: la taille qui varie de 4 à 25 centimètres, la couleur (jaune pour le *C. limon*, orange pour le *C. aurantium*) et la forme. (Tableau N° III) Les citrons sont en général oblongs, les mandarines sont aplaties aux pôles alors que les oranges sont rondes. Le jus des pulpes des agrumes peut être acide, c'est le cas du jus de *C. limon* ou acide et amer comme pour le *C. aurantium* (Harley et al, 2006).

Les graines des citrus sont de couleur blanchâtre à verdâtre pâle, aplatie, et angulaire. Elles sont généralement polyembryonnaires comme dans les cas de *Citrus aurantium*, ce qui signifie qu'elles ont plusieurs embryons qui peuvent germer. Les embryons sont soit Zygotiques, dérivent de la pollinisation de l'ovaire par reproduction sexuée, soit Nucellaire, provenant entièrement à partir de la plante mère et présentent des caractéristiques très similaires à la plante mère. (Harley et al., 2006 ; Polese, 2008).

**Tableau N° III :** Description de quelques espèces de citrus. (Harley et al., 2006 ; Bachès et Bachès, 2011 ; Haineault, 2011)

Espèce	nom commun	Taille de l'arbre	Couleur du fruit	Forme du fruit	La pulpe	épines
<i>C. aurantifolia</i>	Chaux (Limettier)	4 m	Vert, jaune verdâtre	petite taille sub-globuleux ou ovales	juteuse, très acide	Sans épines
<i>C. aurantium</i>	Bigaradier (Orange amère)	10 m	Rouge  Orange	Taille moyenne à peau rugueuse, ronds ou ovale	acide et amère	à court épines
<i>C. paradisi</i>	Pomelos (grappfruit)	12 m	Jaune ou rosée	Fruits en grappe à écorce lisse	tendre, juteuse, légèrement amère	Sans épines
<i>C. hystrix</i>	Lime, (ombava)	3à4 m	Verdâtre	Petit, ronds	Acide amère	court épines
<i>C. limon</i>	Citronnier	6 m	Verdâtre, jaunâtre	Moyens à grand, ovoïdes	fine, juteuse, acide	demi-épines
<i>C. bergamia</i>	Orange sauvage	5 m	Jaune	Petite à moyenne, ronds, lisse	Juteuse, acide, amère	Peu épineux
<i>C. medica</i>	Cédrat (cédratier)	3 m	Jaunâtre	Très grand, ronds ou ovales	Presque pas de pulpe : acide amère	Plutôt épineux
<i>C. madurensis</i>	Calamondin	12 m	Orange	Petite taille ronds	Légèrement amères	Peu épineux
<i>C. grandis</i>	Pamplemousse	15 m	Jaune ou vert claire	Très Grand, aplatie ou piriforme	Grossière, faiblement amer	Sans épines

<i>C. reticulata</i>	Mandarin	9 m	Rouge orangé	globuleux souvent aplatis aux deux pôles	La chair sucrée, parfum	Le plus souvent épineux
<i>C. sinensis</i>	orange douce	12m	Orange, rougeâtre	Sub globuleux	juteuse sucré acidulé	souvent épineux découle

### I-1-3 La structure des fruits

Tous les citrus sont identiques dans la structure sauf quand il s'agit des dimensions et de la forme et de la couleur: Selon les espèces, les fruits mûrissent de novembre à mars. Le fruit est constitué d'une peau qui entoure une pulpe riche en eau (Figure N°1). La peau est constituée de l'extérieur vers l'intérieur de (kimball, 1999; Polese,2008; Bachès et Bachès , 2011 ; Haineault , 2011) :

- **L'épiderme** : composé de cires épicuticulaires en forme de plaques. La quantité de cires dépend de la variété, des conditions climatiques et de la croissance.
- **Le Flavédo** : caractérisé par sa couleur jaune, verte ou orange. Il abrite les vésicules oléifères qui sont caractérisées par des parois très fines et fragiles qui renferment l'huile essentielle.
- **L'Albédo** : fait de cellules à structures tubulaires qui forment une véritable toile avec la plupart du volume tissulaire comprimé dans l'espace intercellulaire. L'épaisseur de l'albédo varie selon le type d'agrumes et le type de cultures. Il est très riche en flavonoïdes, responsable de l'amertume du jus.

La pulpe est formée de :

- **l'endocarpe** : des fruits avec les carpelles dans lesquelles se trouvent les vésicules contenant le jus, qui, d'un point de vue biosynthétique devrait être

considéré comme le liquide relâché par le cytoplasme et par les vacuoles des cellules internes des vésicules (10 à 14 sections).

- **la Moelle** : la partie la plus interne du fruit est formée par un tissu spongieux similaire à celui de l'albedo.
- **la Navalisation** : correspond à la formation d'un autre petit fruit plus ou moins avorté, soit à l'intérieur soit repoussé l'extérieur, formant une protubérance comme on le rencontre chez l'orange navel.

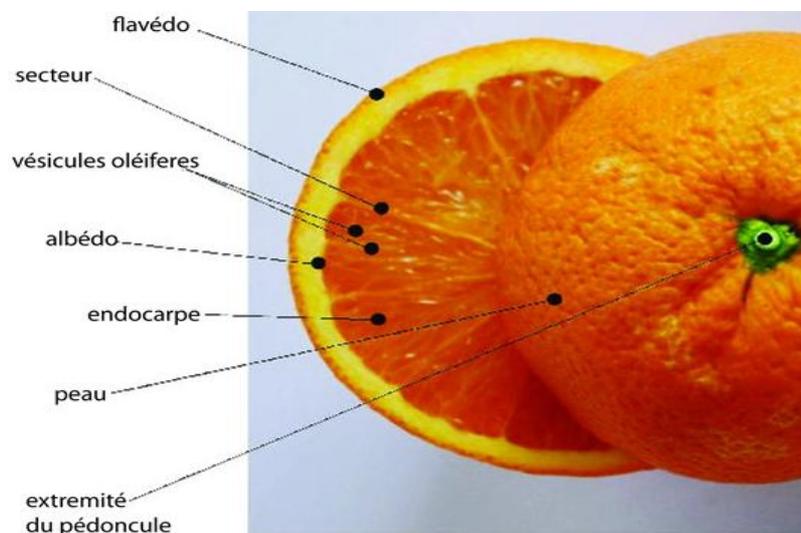


Figure N°01 : Coupe transversale de fruit de *Citrus sinensis* (Polese, 2008).

## I-2 Composition chimique et biochimique des citrus

Les espèces des Citrus présentent une différence dans leurs compositions en éléments nutritifs énergétiques (tableau IV). Ils sont considérés comme des fruits charnus, vu leur teneur élevée en eau qui varie entre 85.7% pour l'orange jusqu'à 91% pour le lime. (Souci et al. 1995 ; Virbal-Alonso, 2011). Les glucides sont les principaux constituants énergétiques des citrus, ils sont constitués principalement de saccharose, fructose et glucose. Les espèces les plus riches sont la mandarine et l'orange douce avec un taux de  $\approx 10\text{mg}/100\text{g}$  de fruits. Quant à la clémentine elle n'en contient que 0.2 mg par 100 g de fruits. Les fruits des citrus

contiennent des polysaccharides complexes dont les plus abondants sont les pectines, au point que les principales sources industrielles de pectines sont les écorces de citron et d'orange. (Souci et al, 1995 ; Haineault, 2011). Les citrus contiennent les protéides (0,7 à 1g /100 g de fruit), et à faible taux les lipides (0,2-0,6 g/100g de fruit) , à l'exception du lime qui en contient plus ( 2,4g/100g) (Haineault, 2011). Les acides organiques, dont la majorité est formé d'acide citrique, avec de petites quantités d'acide malique sont plus ou moins abondants selon les variétés, mais leur teneur est généralement comprise entre 0,6 g et 1 g / 100 g de fruit : orange : 1,2 % ; pomelo : 1,9 % ; citron : 5 % ( Souci et al., 1995 )

La vitamine C est la plus abondante, la clémentine est la plus riche avec 62 µg/100 g de fruit, suivie par le citron et l'orange qui contiennent respectivement 53/100g et 50 µg /100 g de fruit .

Les autres vitamines sont : la folacine, la vitamine B6, thiamine, Riboflavine et des composés de type vitaminique A. (Tableau N°V) (Virbal-Alonso, 2011 ; Haineault, 2011).

Une variété en substances minérales et d'oligo-éléments (Tableau N°VI) ont été identifiées dans les citrus, avec une teneur importante de potassium et de calcium. On y trouve aussi du magnésium, du fer, ainsi que du cuivre, du zinc, du manganèse, et différents oligo-éléments à l'état de traces. (Souci et al, 1995 ; Virbal-Alonso, 2011 ).

Tableau N°IV : Composition biochimique des citrus (g/100g de fruit)(Haineault, 2011)

	citron	lime	mandarine	Orange	pamplemousse	clémentine
eau(g)	90,2	91	86,7	85,7	89	86,9
Fibre alimentaires(g)				2,2	0,6	1,4
protéines(g)	0,7	0,5	0,7	1	0,6	0,7
lipides(g)	0,6	2,4	0,3	0,2	0,2	0,2
glucides(g)	8,1	1,9	10	9,5	9,3	0,7

Tableau N°V : Composition des citrus en vitamines (mg/100g de fruit) (Haineault, 2011).

	Citron	lime	mandarine	orange	pamplemousse	clémentine
Vitamine E (mg)				0,24	0,25	0,55
Vitamine B1 (mg)	51	28	60	79	48	
vitamine B2 (mg)	20	20	30	42	24	
vitamine B3 (mg)	0,17	0,17	0,2	0,3	0,24	
vitamine B5 (mg)	0,27			0,24	0,25	
vitamine B6 (mg)	60		23	50	28	
vitamine B8 (mg)			0,5	2,3	0,4	26
vitamine B9 (mg)		43,5	7	24	11	0,3
vitamine C (mg)	53	43,5	30	50	44	62

Tableau N°VI : Composition en oligo-éléments des citrus (/100g de fruit) (Haineault, 2011)

	Citron	lime	mandarine	orange	pamplemousse	clémentine
fer(g)	0,45	0,2	0,3	0,4	0,34	0,35
Sodium (mg)	2,7	2	1,2	1,4	1,6	
Magnésium (mg)	2,8		11	14	10	11
Potassium (mg)	149	82	210	177	180	145
Calcium (mg)	11	13	33	42	18	26
Nickel (microg)	16		3	10	10	

### I-3 Applications des citrus

#### I-3-1 Application nutritionnelle

Les nutritionnistes encouragent de manière général la consommation des citrus et de leurs jus. En effet les éléments nutritifs et non nutritifs qui contiennent différents composants phytochimiques. (Economos et Clay, 1999), les fruits du genre citrus sont classés parmi les fruits les plus désaltérants due à leur grande teneur en eau.(Souci et *al.*, 1995). Ils offrent aussi un apport énergétique élevé par rapport aux autres fruits ; 42 kcal/100g pour le citron, 45 kcal/ 100g en

moyenne pour les autres espèces. Comme, ils représentent une source appréciable de calcium (entre 10 et 42 mg/ 100g de fruits), dont la bonne assimilation par l'organisme est facilitée par la présence d'acide citrique et de la vitamine C.(Virbal-Alonso,2011). Ils sont précieux à l'organisme qui doit surmonter ou prévenir des carences nutritionnelles, dans le cas de pathologie lié aux régime alimentaire l'obésité et de maladies métabolique croniques (Economos et Clay, 1999).

Les fruits de citrus restent la première source de jus due à leur pulpe juteuse, ils sont aussi exploités en agro-alimentaire pour préparer des marmelades, confiture, confiserie...etc (Virbal-Alonso, 2011)

### I-3-2 Application thérapeutique

L'utilisation traditionnelle des citrus dus à leurs propriétés thérapeutiques remonte au 5<sup>ème</sup>-4<sup>ème</sup> siècle avant JC. (Arias et Ramon-Laca, 2005). Les espèces les plus utilisées pour ces applications sont le citron et l'orange amère. Les guérisseurs traditionnels ont utilisé le citron comme antidote pour le traitement des morsures de serpent. Des études scientifiques, ont confirmé ce rôle d'antidote. En effet, Otero et *al.* (2000) ont démontré que l'extrait éthanolique de fruits mûrs de citron était actif contre les effets létaux et hémorragiques dus aux venins de *Bothrops atrox*.

D'autre part, il a été démontré que le citron a des effets antipyrétiques et des propriétés digestives, ainsi que des vertus dans la lutte contre nausées et perte d'appétit. Il a été démontré aussi des effets thérapeutiques comme hépatobiliaire, dyskinésie, oxiurasis, varices, hémorroïdes, phlébites, et urolithiase. (Arias et et Ramon-Laca, 2005).

Le zeste d'orange amère (*C. aurantium*) renferme de la synéphrine et de la N-méthyltyramine, ce qui a donné lieu, à la création par des médecins chinois d'un produit pharmaceutique aux propriétés adrénergiques (action stimulante similaire à celle de l'[adrénaline](#)). En concentrant ces 2 substances grâce à un procédé d'[hémisynthèse](#), ils obtinrent un extrait qui était en fait un véritable médicament de la classe des [sympathomimétiques](#), employé contre les effets du choc [anaphylactique](#). L'extrait d'orange amère est une substance thermogènes, il augmente le [métabolisme basal](#), il augmente ainsi la quantité de calories brûlées durant la journée en stimulant le système nerveux, de la même façon que l'adrénaline (Dionne, 2009).

Ces dernières années, les scientifiques se sont intéressés aux oligosaccharides pectiques des citrus (POS) en raison de leurs potentialités d'utilisation comme nouvelle génération de pré-biotiques. Certaines des qualités attribuées à ces oligosaccharides sont la protection contre le cancer du colon, une action antibactérienne, la répression de l'accumulation de lipide dans le foie, l'inhibition de

l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales et la stimulation de la croissance des bifidobactéries et d'*Eubacterium rectale*. (Manderson et *al.*, 2005).

Le citron et l'orange amère possèdent une activité anticancéreuse, la chaux peut avoir un effet immunomodulateur, et le pomelo peut être utile pour traiter les problèmes circulatoires. (Arias et *al.*, 2005)

#### **I-4 Pathologies et ravageurs des agrumes du genre citrus**

Les pathologies des citrus sont nombreuses et beaucoup n'ont pas de traitements efficaces. Ces pathologies peuvent être d'origine virale, fongique, bactérien (tableau N°VII). Les symptômes sont variables et peuvent touchés l'arbre tout entier ou seulement le fruit. (Fajinmi et *al.*, 2011). Beaucoup n'ont pas de traitements efficaces mais un grand nombre d'entre eux peuvent être évités par une bonne préparation du sol à la plantation, plantation d'arbuste en bon état, irrigation et fertilisation bien contrôlés, bonne désinfection des outils et de l'arbre infectée. Les insectes aussi provoquent des pathologies du citrus (tableaux N°VII). Ils en causent d'énormes dégâts sur les cultures des agrumes. Le traitement chimique contre ces ravageurs n'est pas opérant. La lutte biologique avec les auxiliaires est la plus indiquée. (Benziane, 2003). En fin la carence en oligoéléments et minéraux est aussi une cause de maladies du citrus par exemple la *Chlorose en fer* est due a une carence en fer (Bachès et Bachès, 2011).

[Tapez le titre du document]

---

**Tableau N°VII** : Exemples de pathologie d'origine microbienne du citrus

Pathologie	Agent Causal	Symptômes	Ref.
Tristeza des agrumes ou virose des agrumes	Citrus Tristeza Virus (CTV)	Cannelures et des striures sur le tronc. Jaunissement, un arrêt de croissance et chute des feuilles. Réduction de la taille des fruits. Nécrose des vaisseaux du liber, tant dans la partie souterraine que dans la partie aérienne. A la fin, l'arbre dépérit et meurt	Bar-Joseph et al, 1989 ; Grisoni, 1996. ; Fajinmi et <i>al.</i> , 2011
Léprosis des agrumes	Citrus leprosis rhabdovirus	Lésions locales rondes à elliptiques avec centre nécrosique sur les feuilles, les rameaux et les fruits	Chagas & Rossetti, 1980; Bastianel et <i>al.</i> , 2010.
<a href="#">Maladie Stuborn des Citrus</a>	mycoplasma-like <i>Spiroplasma citri</i> .	Rameaux courts et coudés. Aspect de feuilles de saule. Le limbe a tendance à s'enrouler de chaque côté de la nervure médiane. Les feuilles deviennent chlorotiques et tombent. L'arbre se dégarnit peu à peu. Les fruits affectés sont glandiformes avec variation dans l'épaisseur de la peau En cas d'attaque grave, la pulpe est atteinte et devient aigre-amère avec une odeur désagréable	Fajinmi et <i>al.</i> , 2011
Ulcère de citron ou "chancre bactérien des agrumes"	<i>Xanthomonas. Axonopodis</i>	petites taches translucides et lésions des feuilles, tiges, et fruit des arbres. Développement de pustules brun et liégeuses sur la tige des plantules, et éruptions Corky de différentes tailles peuvent se former sur le tronc et les rameaux. Eruptions verticalement et horizontalement, formant plaquettes rectangulaires.	Gottwald et <i>al.</i> , 2002.

[Tapez le titre du document]

Gommoses et pourriture fibreuse et pourriture brune	<i>Phytophthora parasitica</i> , <i>P. nicotianae</i> and <i>P. citrophthora</i>	Ecorce du tronc prend une coloration foncée, se dessèche progressivement puis se détache et tombe en écaille. Exsudation de gomme au niveau du tronc et des branches. Boursoufflures sous l'écorce de l'arbre et des plaques transparentes jaune clair d'épaisseur variable sur l'écorce. Racines affaiblie fibreuses. Cortex des racines mou, légèrement décoloré à aspect visqueux. Décoloration marron clair des fruits avec mycélium blanc sur la surface.	Ricci et <i>al.</i> , 1990 ; Ippolito et <i>al.</i> , 2004.
Pourriture brune des cœurs du bois des citronniers	<i>Antrodia sinuosa</i> and <i>Coniophora eremophila</i>	Le premier symptôme évident est la mort des branches de citrus. Ces branches souvent sont partiellement cassées de l'arbre. Pourriture banche à l'intérieur du bois.	Matheron and <i>al.</i> , 2006
Pourriture molle des racines	<i>arrmillaria mellea</i>	Feuilles qui jaunissent (chlorose), flétrissent et tombent, dépérissement progressif de l'arbre. A l'intérieur de l'écorce de la racine, un mycélium blanc, feutré et disposé en éventail. Sur la surface de la racine, se forment des rhizomorphes violacés qui stimulent de petites radicelles; ils sont constitués par des faisceaux de filaments mycéliens dont la couche externe durcit et forme une carapace de couleur brun clair avec des écailles brunes	Guillaumin & Legrand 2005
Pourriture noire du Fruit	<i>Alternaria citri</i> et <i>Alternaria alternata.</i>	pourriture noire du fruit, décoloration noire des graines. Taches brunes circulaires sur le fruit, s'agrandissent, fusionnent et provoquent la pourriture des fruits et nécrose. Taches brune entourées d'un halo chlorotique sur les jeunes feuilles. .	Isshiki et <i>al.</i> , 2001

## Premier Chapitre

**Tableau N°VIII** : Les ravageurs des citrus (Normand, 1992 , Boulahia-Kheder et al., 2002 , Benziane T. 2003.)

Insecte		Dégâts occasionnés
<b>Nématode du citrus</b>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Les arbres atteints manquent de vigueur, perdent leurs feuilles et montrent un dessèchement des extrémités des rameaux. Sur la partie souterraine, les racelles sont courtes, épaisses et nécrosées.
<b>Mineuse agrumes (chenille)</b>	<i>Phyllocnistis citrella</i>	Galerie dans la feuille.
<b>Teigne des agrumes (papillon)</b>	<i>Ecdytopha aurantiana</i>	Perforation des feuilles et des fruits Les fruits tombent en masse sans raison apparente
<b>Pucerons noirs, verts et jaunes.</b>	<i>Toxoptera citricidus,</i>	<i>Attaque sur</i> jeunes pousses et bourgeons floraux. croissance des jeunes pousses fortement altérée, les feuilles friables, fripées et recroquevillées. Colonies noires sur les branches.
<b>Cochenilles brunes, blanches, noires</b>	<i>Unapsis Yanonensis</i> <i>et</i> <i>Aonidiella citrina</i>	Jaunissement et dessèchements des feuilles accompagné bien souvent de fumagine. Dépérissement des branches. Décoloration puis chute des feuilles. Dépérissement et blocage de la croissance des rameaux apicaux. Piqûre des fruits qui chutent prématurément.
<b>Mouche du fruit noire et jaune</b>	<i>Ceratitis capitata</i>	Sur le fruit attaqué, on observe une petite tâche noire entourant le point de piqûre qui s'agrandit par la suite. Une dépression se creuse en dessous du fait de la pourriture des tissus du fruit qui tombe prématurément.
<b>Acariens</b>		Aspect plombé des feuilles

## **II-1- Généralités**

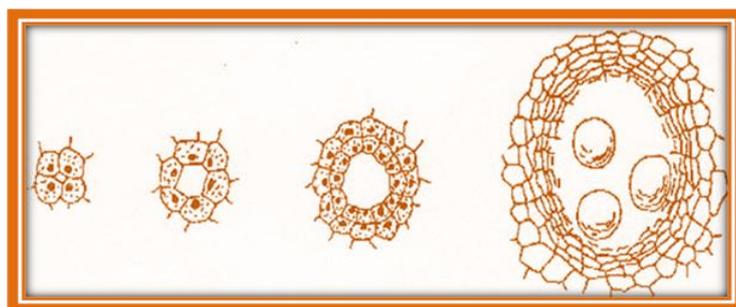
Le terme « Huile essentielle » est définie autant que produit odorant, généralement de composition complexe obtenue à partir d'une matière première botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage (Bordeaux, 2009).

## Premier Chapitre

Depuis le moyen âge, les huiles essentielles sont largement répandues pour leurs propriétés bactéricides, virucides, fongicides, antiparasitaires, insecticides, ainsi pour leurs applications médicales et cosmétiques (Guimaraes et *al.*, 2010). De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques comme antimicrobienne, anti inflammatoire, sédatif, analgésique, spasmolytique et anesthésique local. Le thymol, par exemple, est employé en soins dentaires pour ses propriétés antiseptiques ou encore l'eugénol pour ses propriétés analgésiques (Pauli, 2001). L'industrie agroalimentaire exploite aussi les huiles essentielles pour l'emballage, la conservation et l'aromatisation des produits. (Guimaraes et *al.*, 2010).

Les huiles essentielles sont majoritairement à la source d'odeurs jouant le rôle à la fois de répulsif envers les prédateurs (concurrents écologiques) et d'attractif pour la pollinisation, de pigments permettant de capter le rayonnement solaire mais aussi de protéger la plante contre ce rayonnement (Sutour, 2010). Les diverses espèces du genre citrus sont classées parmi les 10% d'espèces végétales classées comme plantes aromatiques, due à leur pouvoir de synthétiser une essence (Attou, 2011).

Les huiles essentielles sont des extraits volatils que les citrus élaborent et stockent dans des poches schizolysigènes (Fig.2) (Bruneton, 1993). Ces poches sécrétrices sont localisées dans tous les organes végétaux des citrus : l'écorce, les feuilles, les tiges, les fleurs, les fruits (le flavedo) et les graines. Les cellules, entourant la poche, se divisent et s'organisent pour constituer des rangées successives autour de la poche, avec un phénomène de lyse pour les cellules de la rangée la plus interne (Fig.2) (Besombes, 2008).



**Figure n °2:** Structure schématique d'une Poche sécrétrice schizolysigène (Besombes, 2008).

## Premier Chapitre

La caractéristique qui différencie les citrus des autres plantes aromatiques est la composition chimique de l'essence d'une même espèce, qui pourra varier selon les organes producteurs cités précédemment (tableau N°IX). Le *citrus aurantium*, par exemple l'huile essentielle de son zeste est appelée « essence de l'orange amer », celle prélevé des feuilles est dite « huile essentielle de Petit grain de Bigarade », alors que celle des fleurs est « huile essentielle de Néroli Bigarade » (Guilhem Jocteur 2007).

**Tableau N° IX :** Les différentes appellations des huiles essentielles du genre *Citrus* selon l'espèce et de l'organe producteur. (Guilhem, 2007).

Espèce	organe	nom de l'HE
<i>C. bigaradia</i> Risso (bigaradier)	Fleurs <sup>a</sup>	néroli
	Feuilles <sup>a</sup>	petitgrain
	Epicarpe <sup>b</sup>	orange amère
<i>C. sinensis</i> (orange douce)	Fleurs <sup>a</sup>	néroli
	Feuilles <sup>a</sup>	petitgrain
	Epicarpe <sup>b</sup>	orange douce
<i>C. bergamia</i>	Epicarpe <sup>b</sup>	bergamot
<i>C. aurantifolia</i>	Epicarpe <sup>b</sup>	lime
<i>C. reticulata</i>	Epicarpe <sup>b</sup>	mandarine

<sup>a</sup>: entrainement à la vapeur, <sup>b</sup>: expression à froid

Les huiles essentielles de citrus sont parmi les plus abondantes et les moins chères. Selon Lawrence (2009), les quantités produites à la fois par expression et par hydrodistillation s'élevaient à environ 62 500 tonnes en 2007. L'orange est la plus abondante avec 51 000 tonnes, suivie de l'huile essentielle de citron avec 9 200 tonnes.

### II-2-Extraction des Huile essentielles

#### II-2-1-Méthodes d'extractions classiques

Il existe de nombreux procédés d'extraction des huiles essentielles : la distillation, l'extraction par les solvants, l'extraction par les huiles et les graisses ; l'extraction par les gaz supercritiques...etc. Cependant la Pharmacopée européenne ne retient pour l'extraction des huiles essentielles que les procédés suivant : l'entrainement à la vapeur d'eau, la distillation sèche et tout procédé mécanique sans chauffage (Besombes, 2008). Comme il existe d'autres

## Premier Chapitre

---

techniques, dont les rendements d'extractions sont meilleurs, pour extraire les huiles essentielles. C'est le cas de l'extraction par micro-ondes ou ultrasons, les fluides supercritiques ou encore l'eau à l'état subcritique et aussi technique combinant distillation et micro-ondes appelée distillation « sèche » par micro-ondes qui ne nécessite ni eau, ni solvant organique.

### ➤ **Expression à froid des épicarpes**

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits de citrus. Il s'agit de rompre les poches sécrétrices grâce à un procédé physique à température ambiante. Le procédé consiste à exercer sous un courant d'eau une action abrasive sur toute la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation (Wilson, 2002).

Cette technique d'extraction des huiles essentielles de citrus est la plus répandue, principalement à l'échelle industriel. Elle permet d'obtenir les huiles dites « cold-pressed ». Elle peut être réalisée à partir du fruit entier avant extraction du jus (machines pelatrices), simultanément ou après (machines sfumatrices) extraction du jus. La quantité d'eau consommée est de 1,9 L par kilogramme de fruits. Pour l'orange, les rendements varient entre 1,5 et 4,4 kg d'huile essentielle par tonne de fruits (Matthews *et al.* 1987).

### ➤ **Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation constituent les procédés d'extraction les plus anciens, apportés par les Arabes au IX<sup>ème</sup> siècle. Cette opération s'accomplit traditionnellement dans un alambic (Bruneton, 1993). Il s'agit d'un entraînement à la vapeur d'eau (détruit la structure des cellules végétales) des composés les plus volatils contenus dans l'essence. Dans le premier cas « l'hydrodistillation simple », la matière végétale est immergée dans un alambic rempli d'eau porté à ébullition. La matière peut être broyée au préalable. Dans le deuxième cas « la distillation à la vapeur saturée », le matériel végétal n'est pas en contact avec de l'eau : la vapeur est injectée sur la matière directement.

Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées sur des surfaces froides et récupérées. Dans l'essencier, l'huile essentielle, de densité inférieure à l'eau en général, surnage au dessus de l'hydrolat. L'hydrolat contient en bien plus faible proportion les mêmes composés que l'huile essentielle mais aussi des composés hydrosolubles que l'huile essentielle ne contient pas. Ainsi, les hydrolats aromatiques possèdent de véritables actions thérapeutiques et sont utilisés dans des lotions de dermo-cosmétiques.

### ➤ **Hydrodistillation assistée par ultrasons**

Il s'agit d'une amélioration de la technique décrite précédemment, accompagné dans ce cas précis d'un traitement « pré » ou « post » opératoire. En effet, les micros cavitations générées par les ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, les rendements en huile essentielle sont augmentés et les cinétiques accélérées (Skaria *et al.*, 2007).

# Premier Chapitre

## II-2-2- Comparaison entre les techniques d'extraction

Des travaux comparant les différentes techniques d'obtention des huiles essentielles ont été réalisés par Ferhat et ses collaborateurs (2007). Les paramètres de comparaisons de performances ont été définis en termes de durée d'extraction, de rendement, de propriétés physiques et organoleptiques et de composition de l'extrait huileux. (Tableau N° X). La distillation « sèche » par micro-ondes permet de réduire le temps d'extraction à 30 minutes au lieu de 3 heures pour l'hydrodistillation et 1 heure pour l'expression. Elle présente la durée de l'extraction la plus courte avec le rendement le plus élevé 0,24 %. Cette technique permet également de diviser par 4 (minimum) la consommation énergétique tout en obtenant un rendement d'extraction plus élevé. Aucune différence significative n'est observée concernant les propriétés physiques des huiles obtenues. La technique qui permet d'obtenir l'huile essentielle la plus riche en citral et un faible ratio limonène/citral reste néanmoins l'hydrodistillation.

**Tableau N° X:** Comparaison de technologies d'obtention d'HE de citron (Ferhat et *al.*, 2007)

	Expression	Hydro distillation	Distillation « sèche » par micro-ondes
Rendement d'extraction (%)	0,05	0,21	0,24
Durée	1 heure	3 heures	30 minutes
Terpènes oxygénés dans l'huile essentielle (%)	2,00	4,53	3,93
Limonène (%)	75,68	72,9	69,65
Citral (%)	1,65	2,17	1,57
Ratio limonène/citral	45,87	33,59	44,36
Densité $d_{20}^{20}$	0,856	0,849	0,834
Indice de réfraction $n_D^{20}$	+1,475	+1,474	+1,474
Pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{20}$	+49°	+42°	+44°
Consommation électrique (kWh)	1,00	4,33	0,25
CO <sub>2</sub> rejeté (g)	800	3464	200

L'hydrodistillation permet d'extraire une huile essentielle contenant le maximum des terpènes oxygénés. Concernant les Limonènes, le procédé qui nous permet d'avoir le plus est bien celui de l'expression à froid. La densité, le pouvoir rotatoire sont des paramètres qui varient selon la technique utilisée. Par contre l'indice de réfraction ne change pas quelque soit la technique choisie. (Ferhat et *al.*, 2007)

## II-3- Composition chimique des huiles essentielles de citrus

Les mélanges naturels peuvent être schématiquement repartis en deux groupes : les volatils et les non volatils (Bruneton, 1993). D'après Mondello *et al.* (2005), les huiles essentielles de citrus sont des mélanges comportant plus de 200 composés qui peuvent être regroupés en fractions non volatile (1- 15 %) et volatile (85-99 %). Les molécules volatiles proviennent du métabolisme secondaire et elles sont très souvent formées à partir d'entités isopréniques et constituent principalement la famille des terpènes (ou terpénoïdes) tels les monoterpènes (limonene, myrcène,  $\beta$ -pinène ,...), les sesquiterpènes ( $\gamma$ -terpinène ,  $\alpha$ -

## Premier Chapitre

---

terpinène , ... ) , ainsi qu'une petite quantité de monoterpènes oxygénés (fonctions aldéhydes, cétones, alcools et esters). Les huiles essentielles de citrus sur le plant chimique diffèrent principalement les unes des autres par leur composition quantitative et qualitative (Tableau N°X). Selon Kamel et *al.*, ( 2011) cette différence dans la composition des écorces en huiles essentielles revient aux différentes variétés des espèces et aux conditions de séchage.

Le limonène reste toujours le composé majoritaire (Lola et *al.*, 2002; Mondello *et al.* 2003 ; Muhammed Mushtaq et *al* 2006 ; Kamel et *al.*, 2011 ; Majnooni et *al* 2012). Selon Kamel et ses collaborateurs (2011), le limonène varie de 64,1 à 71,1% dans *C. reticulata*, de 66,8 à 80,9% dans *C. sinensis* et de 50,8 à 65,5% dans *C. paradisi*. Lola et *al.*, (2002) ont étudié les huiles essentielles des feuilles et des écorces de 43 variétés de citron et de lime. Pour les différentes variétés de citron, le pourcentage de limonène dans le zeste varié de 38,1 à 98,5%, et dans les feuilles varié de 8,5 à 33,5%. Pour les variétés de lime les taux de limonène sont estimés : pour les huiles essentielle du zeste sont de 40,3 à 94,4%, pour les huiles essentielles de feuilles sont entre 11,1 et 63,4%.

## Premier Chapitre

Tableau XI : Composition des huiles essentielles des citruses en substances volatiles

composés	<i>C. Reticulata</i> <sup>*</sup>	<i>C. aurantium</i> <sup>**</sup>	<i>C. Reticulata</i> <sup>&amp;</sup>	<i>C. Sinensis</i> <sup>&amp;</sup>	<i>C. reticulata</i> <sup>§</sup>	<i>C. aurantium</i> <sup>§</sup>	<i>C. grandis</i> <sup>§</sup>	<i>C. sinensis</i> <sup>§</sup>	<i>C. Reticulata</i> <sup>f</sup>	<i>C. Sinensis</i> <sup>h</sup>
α-pinène	0.1	0.5	3.27		0.61	0.27	0.15	0.21	2.77	0.36
Sabinene	0.1	0.1	1.06		0.34	0.28	0.19	0.16		0.37
Myrcene	0.3	2.37		1.03	0.03	Nd	0.03	0.03	3.18	1.71
limonene	46.7	57.57	20.88		92.6	96.9	95.4	96.3		90.66
(Z)-B-ocimene	Tr	0.25	4.78		nd	Nd	0.01	nd	0.25	0.04
E)-B-ocimene	0.4	4.66			0.03	0.31	0.26	0.03		0.02
Gamma terpinene		0.11		4.79	3.39	Nd	0.01	0.04	47.89	0.02
Nonanale	0.4									0.05
linalool	0.7	8.01	3.52	10.5	0.31	0.17	0.09	0.05		0.02
pharnisene			0.07	1.04						
Camphen			4.47		Tr	Nd	nd	nd		
Acide indicanoïque			2.01	3.81						

## Premier Chapitre

Beta phenaldrene				2.82						0.04
terpinolene		0.13			0.15	Nd	nd	0.07	4.63	0.18
Linalool oxyde		0.13							0.79	
Cis – limonene oxyde	Tr	0.71	2.19	0.79					0.66	
Borniol			3.03		0.01	Nd	Tr	0.03		
Iso Plégol		0.12								0.26
citronillal	1.3	0.89								0.17
Acitate de pharmisene			0.08							
$\alpha$ -Terpineol	Tr	0.65		7.06						0.06
Termen 4 ol		0.16								
Garvéol		0.51	4.96	0.46						
E anitol		1.05								
Decanol	0.6			0.76	0.02	Nd	nd	0.01		
Dacanal				0.08						0.02
Nerol	2.3									
Verbinol				2.87						

## Premier Chapitre

Carvone	Tr	0.4	1.5	4.52						0.05
Nenal	14.5	0.22								
Geraniol	3.5	0.57								
Thymol		0.59							0.25	
Menthatriene				0.11						
Acide caprilique				0.15						
Carvacrol		1.4								
Geranial	19				0.01	0.04	0.03	nd		0.65
Geranyl formate	Tr									0.65
Cirtonilolo		0.69		3.97						0.46
Neryl acetate	1.1				nd	Nd	0.08	0.03		
Geranyl acetate	3.9				nd	Nd	0.01	nd		
Alpha bisabolene		2.1								
Alpha murolene		0.19								
B- Caryophyllene	2.6	2.6								
Trans- $\alpha$ -bergamotene	0.1	1.3								

## Premier Chapitre

Alpha cadinene		0.65							
Trans nérolidol		0.67							
Spathulinol		1			nd	Nd	nd	0.01	
$\alpha$ -Humulene	0.3	0.3			0.08	0.15	0.1	0.04	0.05
B-Bisabolene	0.2	0.47			nd	Nd	nd	nd	
Germacrene B		0.44			nd	Nd	0.01	nd	
Germacrene D	Tr	1.11			0.02	0.03	0.05	0.04	
(E)-nerolidol	Tr				nd	Nd	0.03	0.03	
Caryophyllene oxide	0.2	0.67							

Ref. <sup>\*</sup> Chutia et al., 2009 ; <sup>\*\*</sup> Majnoui et al., 2012 ; <sup>&</sup> Mohamed et al., 2010 ; <sup>§</sup> Hosni et al., 2010 ; <sup>†</sup> Fayed, 2009 ; <sup>h</sup> Sing et al., 2010.

### II-4- Effet pharmacologique

Les huiles essentielles présentent des propriétés anti-oxydantes, anti-tumorales et antimicrobiennes. Les huiles essentielles de citrus sont employées comme désaltérant, possédant des propriétés, tonique, stimulante, stomachique, carminative, diurétique, entretien de la peau et soins, antirides, antiobésités, antispasmodique, fébrifuge, colique, états fiévreux, spasmes, vasodilatatrice, anti-anxieux (Bardeau, 2009).

#### II-4-1 Activité antioxydant

Les propriétés antioxydants des huiles essentielles de citrus sont depuis peu massivement étudiées. En effet, elles se sont avérées être de très bon antioxydants, donc peuvent être utilisées dans le traitement de pathologies liées au stress oxydatif telles que l'Alzheimer, l'artériosclérose et le cancer ainsi que dans les pathologies dégénératives associé au vieillissement. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de remplacer dans l'alimentation les apports supplémentaire en antioxydants classiques (vitamine C, a-tocophérol, BHT, etc.) par les huiles essentielles (Pincemail et *al.*, 2002 ; Saleh et *al.*, 2010 ).

Majnooni et *al.* (2012) suggèrent la possibilité d'utiliser l'huile essentielle de *C. aurantium* comme une source potentielle d'antioxydants. Ils ont démontré que l'huile essentielle du bigaradier avait une forte capacité à piéger les radicaux libres (DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et un grand pouvoir réducteur. Les CI<sub>50</sub> de l'huile essentielle dans le radical DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et du pouvoir réducteur sont de 1040 ± 0,9 , 140 ± 1,5 et 1580 ± 1,03 pg / ml, respectivement. Cette activité antioxydant du *C. aurantium* a été aussi confirmé par Siddique et *al.*, ( 2011 ). Selon ces auteurs l'huile brute de *citrus aurantium* a 94,64% d'effet scavenger sur le radical DPPH et une activité antioxydante meilleur que le BHT.

Dongmo et *al.*, (2008), ont évalué les propriétés antiradicalaires des huiles essentielles de *C. reticulata* et *C. sinensis* par la méthode du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH . Ces huiles ont des efficacités antiradicalaire évaluées par les IC<sub>50</sub> égales à 4,10 ± 0,05 g·L<sup>-1</sup> et 7,40 ± 0,55 g·L<sup>-1</sup> respectivement, alors que le composé antiradicalaire de référence (butylhydroxytoluène ou BHT) donnait une IC<sub>50</sub> de 7,02 ± 0,5 mg·L<sup>-1</sup>. L'activité scavenger de *C. reticulata* (petitgrain) a été démontrée aussi par Fayed (2009) sur le même radical (DPPH). Le meilleur effet antioxydant a été obtenu avec 76,80% pour une concentration de 200 pg / ml.

D'autres espèces du genre Citrus ont été étudiier par Nasuti *et al.* (2011) : oranges de Thomson, de Hamlin, de Moro et de Mars ainsi que l'espèce de satsuma. Elles ont toutes présenté une activité anti radicalaire remarquable, la plus forte a été enregistrée pour l'orange Hamlin (90%°), tandis que la plus faible est la variété Mars avec une activité scavenger de 22% seulement.

#### II-4-2 Activité anticancéreuse

Des études récentes suggèrent que les huiles essentielles des graines du citron et les feuilles de l'orange amère pourraient avoir une activité anticancéreuse en raison de leur contenu en limonène. Il a été démontré que le limonène présente un pouvoir pour inhibiteur de la croissance des cellules tumorales du cancer du sein ( lignée MCF-7) ( [Tian et al., 2001](#) ).

## Premier Chapitre

L'huile essentielle de mandarine de petitgrain a donné une forte activité anticancéreuse sur les lignes des cellules HL-60 et NB4 de la leucémique. Les valeurs de IC<sub>50</sub> de l'huile essentielle sont : de 85,05pg/ml dans la ligne des cellules NB4 et 105,73 pg /ml dans la ligne des cellules HL-60 ( Fayed, 2009).

### II-4-3 Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *C. aurantium* a été déterminée avec la méthode de diffusion en disque de papier, contre les bactéries Gram positives et Gram négatif (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ). La zone maximale d'inhibition a été observée pour *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus*. Alors que *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont résistantes à l'huile de *C. aurantium* ( Siddique *et al.*, 2011). Egalement, une forte activité antibactérienne *in vitro* et sur des nourritures a été démontrée pour l'huile essentielle de bergamote contre *Monocytogenes de L. Staphylocoque doré cierge* et de *Staphylocoqu jejuni*.

### II-4-4 Activité antifongique

Les huiles essentielles de citron, mandarine, pamplemousse et d'orange ont été testées par Viuda-Martos *et al.*(2008) pour leurs pouvoir d'inhibition de croissance de plusieurs espèces de champignons : *Aspergille niger* , *Aspergillus flavus*, *penicillium verrucosum*. Toutes les huiles ont montré l'activité antifongique. L'huile essentielle d'orange est la plus efficace contre *A. Niger*, alors que l'huile essentielle de mandarine est la plus efficace contre *Aspergillus flavus*. L'huile essentielle de pamplemousse est le meilleur inhibiteur de la croissance de l'espèce *Penicillium verrucosum*.

L'huile de *Citrus reticulata* a été examinée contre cinq mycètes : *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *lunata de Curvularia*, *oryzae de fusarium oxysporum* et de *Helminthosporium*. Les concentrations inhibitrices minimums (MIC) pour les trois premières espèces était de 0,2 ml/100 ml tandis qu'elle est supérieur à 0,2 ml/100 ml pour les deux dernières espèces. D'autre part, la sporulation fongique a été complètement empêchée à des concentrations plus élevées (Chutiaa *et al.*,2009).

### II-5 Toxicité des huiles essentielle des citrus

Les huiles essentielles sont un mélange complexe de molécules dont la structure et les propriétés chimiques permettent de dégager des caractéristiques communes, leur assurant une bonne diffusion dans l'organisme. Malgré le peu d'étude sur la toxicocinétique des huiles essentielles, il faut retenir leurs pouvoirs toxiques, notamment leurs hépatotoxicité, neurotoxicité et phototoxicité récemment élucidée pour quelques huiles essentielles (Bruneton, 1999).

Les espèces du genre *Citrus*, le plus souvent incriminées dans les cas de phototoxicité sont : le Bigaradier, le Bergamotier, le Citronnier et le Limettier. Les risques de phototoxicité après ingestion des huiles essentielle de citron et de l'orange amère sont

## Premier Chapitre

---

cependant très limités, plus importants après contact sur la peau. Des cas de photosensibilisation ont été rapportés, essentiellement chez des personnes à peau claire (Daovy, 2009).

Pour des produits à usage non traditionnel à base de huiles essentielle d'écorce d'orange amère pour son effet censés favoriser la perte de poids, des cas de toxicité ont été rapportés. Il s'agit de troubles cardiovasculaires (augmentation de la tension artérielle, accélération du rythme cardiaque, vasoconstriction), après une utilisation importante ou prolongée due à la caféine qui potentialise considérablement ces effets. IL a été démontré pour cette même huile essentielle et celle de citron ont un pouvoir inhibiteur sur le cytochrome P450 3A4 responsable de la métabolisation de nombreux médicaments. (Daovy, 2009 , González-Molina et *al.*, 2010 ) .

Les huiles essentielles des écorces de citrus, principalement d'orange, citron, pamplemousse, de bergamote et de citron vert sont irritants (brûlures, prurit et autres réactions cutanées fortes) sur la peau normale après un contact d'une heure. Un eczéma peut apparaitre due la présence des terpènes, limonènes, alpha- et bêta-pinènes, géraniol et citral. Ils sont à l'origine de dermatoses professionnelles chez les boulangers-pâtisseries, les barmen et les travailleurs de conserveries. Des dermatites et de paronychites ont été observées chez des éplucheurs de citrus, dont les ongles sont souvent érodés, spécialement à la base. Ces réactions irritatives de contact à la pelure de citron sont plus fréquentes que celles à la pelure d'orange (Géraut et *al.*, 2010 , González-Molina et *al.*, 2010 ) .

# *MATÉRIELS ET MÉTHODES*

### Conclusion

Les huiles essentielles représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs. Ce travail a pour objectif la valorisation des huiles essentielles des arbres fruitiers de genre *Citrus* de la région de Bejaia. Dans ce contexte et après avoir mis en évidence le nombre chromosomique de deux espèces de ce genre, à savoir *Citrus limon* et *Citrus aurantium*, nous avons procédé à l'évaluation des propriétés antioxydant des huiles

# CONCLUSION

essentielles de leurs écorces.

La détermination des rendements en huile volatile chez l'espèce *Citrus aurantium* et *Citrus limon* a montré la richesse du genre *Citrus* en huiles essentielles, enregistrant un taux de  $0.54 \pm 0.02$  % chez la première espèce alors qu'il est largement inférieur pour le *Citrus limon*  $0.36 \pm 0.02$ . Le nombre chromosomique de ces deux espèces est de  $n=9$  et  $2n=18$ .

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire contre le radical ABTS et DPPH, à des concentrations différentes, a prouvé que les huiles essentielles du genre *Citrus* possèdent une bonne activité scavenging, notamment sur le radical DPPH. Cependant, l'huile essentielle de *Citrus aurantium* possède une activité supérieure à celle de *Citrus limon*. En ce qui concerne le pouvoir réducteur on a constaté que les deux huiles essentielles possèdent un pouvoir réducteur important.

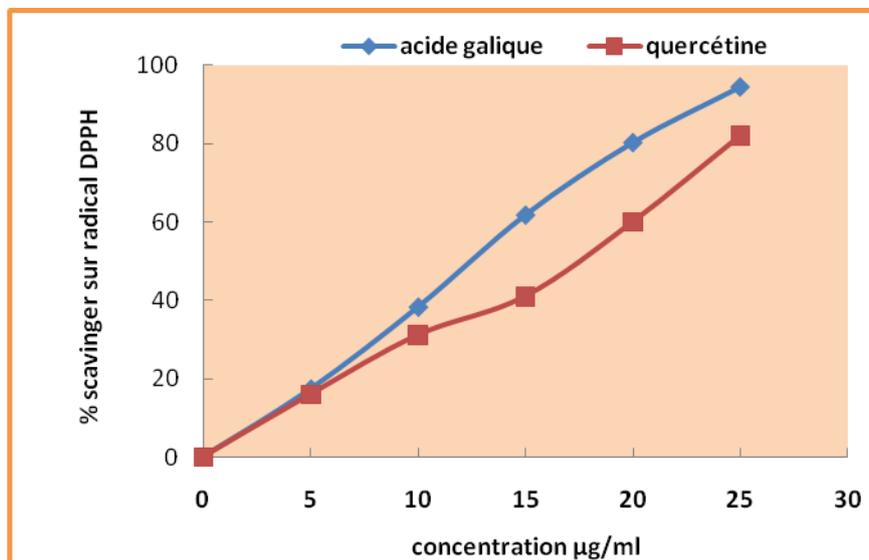
En fonction des résultats obtenus, nous pouvons dire que les huiles essentielles des espèces étudiées sont très efficaces en tant que piègeur des radicaux libres. Cela nous permet d'envisager leurs utilisations dans le domaine pharmaceutique et cosmétique

En perspective, ces résultats restent partiels et d'autres travaux s'imposent aux niveaux pharmacologiques et biochimiques. Donc, il serait intéressant à l'avenir de procéder à une séparation par des méthodes plus avancées telles que l'HPLC et la RMN, afin d'identifier les composés responsables de l'activité antioxydant. Tester les composés identifiés individuellement en faisant appel à des tests pharmacologiques in vivo. Evaluer l'activité antioxydant non seulement sur les huiles essentielles utilisées seules ou leurs composés majoritaire, mais également en mélange, permettant ainsi une éventuelle synergie. Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres radicaux libres, afin de confirmer l'efficacité ou non des huiles essentielles des citrus. Et enfin, vérifier l'absence d'effets cytotoxiques de ces composés.

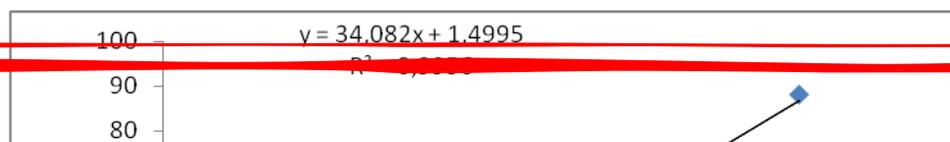
# ANNEXES

# Premier Chapitre

**Annexe 01 :** Evaluation de l'activité Scavenger du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide galique et quercétine.



**Annexe 02 :** Courbe d'étalonnage du r



# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ❖ **Abbate L., Nicasio T., Fatta Del Bosco S., Strano T., Agatino R. and Giuseppe R (2012)**: Genetic Improvement of *Citrus* Fruits: New Somatic Hybrids from *Citrus sinensis* (L.) Osb. and *Citrus limon* (L.) Burm. F. *Food Research International*,(18) : 95 -116.
- ❖ **[Akerström B](#), [Maghzal GJ](#), [Winterbourn CC](#), [Kettle AJ](#).(2007).**The lipocalin alpha1-microglobulin has radical scavenging activity. *Journal bio. Chimistry*.(43):31493-503.
- ❖ **Alvarez R.G.O., Morales G.V., Gonzalez C.N., Cabrera S.L., Sulbaran B.F (2005)**. Composition the *C. limon* (L.) essential oil (Venezuela). *Burm.f. Revista-de-la-Facultad-de-Agronomia, Universidad--del-Zulia*, 15: 343-349.
- ❖ **Arias B.T et Ramon-laca L (2005)**. Propriétés pharmacologiques d'agrumes et de leurs anciennes et utilisations médiévales dans la région méditerranéenne. *Journal d'Ethnopharmacologie* (97), p : 89-95.
- ❖ **Attou A (2011)**. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent ; thèse de l'université ABOU BEKER Belkaid Tlemcen.
- ❖ **Awika J.M., Rooneyl., Wv X., Trior R., Agric J. (2003)**. *Food chimistry*. 51: 66-157.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Bachès B. et Bachès M (2011).** Agrumes, nouvelle edition ULMER: 7-127
- ❖ **Bardeau F (2009).** Les huiles essentielles, découvrir les bienfait et les vertus d'une médecine ancestrale. Edition Lanore,315.
- ❖ **Bar-Joseph M.; Marcus R. et Lee R.F (1989).** The continuous challenge of *Citrus tristeza virus* control. Annual Review of Phytopathology (27), p: 291-316.
- ❖ **Benziane T (2003).** De la lutte dirigée à la lutte intégrée contre les principaux ravageurs en vergers d'agrumes au Maroc: cas de la région du Gharb. Thèse de Doctorat ès-Sciences. Université Moulay Ismaïl - Meknès (Maroc), 206 pp.
- ❖ **Besombes C (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de docteur de l'université de la rochelle, p :27-268.
- ❖ **Boulahia-Kheder S. ; Abderrahmane J. ; Fraj J. et Mouldi F (2002).** Study of the citrus leaf miner *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep. Gracillariidae) in the Cap Bon area (Tunisia). (1), p: 29-42.
- ❖ **Bruneton J (1993).** « *Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales* » 2ème édition, Tech et doc, Lavoisier, Paris.
- ❖ **Bruneton J (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> Edition, TEC et DOC Lavoisier, Paris. P : 483-574.
- ❖ **Chagas C.M. et Rossetti V (1980).** Experimental transmission of citrus leprosis by leaf implant into the stem. Fitopatologia Brasileira ( 6), p: 211-214.
- ❖ **Chia-wen L., Chia-wen Y., Sung-chuan W. and Kuang-hway Y. (2009).** DPPH free radical scavenging activity, total phenolic contents and chemical analysis of forty two kinds of essential oils. Journal of food and drug analysis, 17 (5): 386-395.
- ❖ **Chutia M., Deka Bhuyan P., Pathak M.G., Sarma T.C. et Boruah P (2009).** Antifungal activity and chemical composition of Citrus reticulata Blanco essential oil against phytopathogens from North East India, LWT - Food Science and Technology 42 :777–780.
- ❖ **Cronquist A (1988).** The evolution and classification of flowering plants. 2<sup>a</sup> edition. New York Botanical Garden, Bronx.p :359.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Daovy A (2009).** L'oranger amer ou bigaradier .actualités pharmaceutique volume 48, page 47- 49.
- ❖ **Dionne J.I (2009).** Thermic effect of Citrus aurantium in obese subjects. *Current Therapeutic Res* 1999; 60: 145–151.
- ❖ **Djeridan A. Yousfi M. Nadjmi B. Bontassonna D. Stocker P and Vidal N. (2006).** Antioxidant activities of some Algerian medicinal plants extraits containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 96: 654-660.
- ❖ **Dongmo P.M.J., Kuate J., Nguouana V., Damesse F., Sonwa E.T., Zollo P.H.A and Menut C (2008).** Comparaison des propriétés antiradicalaires et antiinflammatoires des huiles essentielles de *Citrus reticulata* var. Madagascar et *Citrus sinensis* var. Casagrande du Cameroun *Fruits* 63 : 201-208.
- ❖ **Dongmo P.M.J., Tatsadjieu N., Sonwa T E., Kuate J., Amvam Zollo P. H. et Fayed C. M (2009).** Essential oils of Citrus aurantifolia from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 4 (4), pp. 354-358,2009.
- ❖ **Economos C et Clay W.D (1999).** Nutritonal and health benefit of citrus fruits. *Food Nutrionand agriculture*. 24, 11-18.
- ❖ **Erken N., Ayranci,G., and Ayranci, E.(2008).** Antioxidant activities of Rus mary ( *Mosmarinus officinalis*. L.). extract, Blak Seed ( *Ngulla Sativa*.) essential oil, carnosic acid Rosemorinic Acid and sesamol. *Food chimestry*. 110: 96-82.
- ❖ **Fajinmi A.A., Fajinmi O.B. and Amusa N.A (2011).** An Overview of Citrus Virus Disease and its Control in Nigeria. *Journal of Advances in Developmental Research* (2), p: 151-157.
- ❖ **Fayed S.A (2009).** Antioxidant and Anticancer Activities of *Citrus reticulata* (Petitgrain Mandarin) and *Pelargonium graveolens* (Geranium) Essential Oils. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 5(5): 740-747.
- ❖ **Ferguson, J. J et Timothy, M. S. (2002).** Usage médicinal de Citrus HS892, Département des sciences horticoles, service en Floride Coopérative Extension, Institut de l'alimentation et Agricultural Sciences, Université de la Floride; HS892.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Ferhat M. A., Meklati, B. Y., Chemat, F (2007).** Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour and Fragrance Journal*. 22(6): 494-504.
- ❖ **Fichan I., Larroche C., Gros J. B (1999).** Water solubility, vapor pressure, and activity coefficients of terpenes and terpenoids. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 44(1): 56-62.
- ❖ **Fuselli R., Susana B., Garcia D.L.R., Martin J., Rosalia F (2008).** Chemical composition and antimicrobial activity of citrus essences on honeybee bacterial pathogen *paenibacillus* larvae, the causal agent of American fonlbrood. *word journal of microbiology and biotechnology*, (24), p : 2067-2072.
- ❖ **Géraut C., Cleenewerk M.B., Jelen G., Géraut L., Tripodi D (2010).** Dermatitis eczématiformes et métiers de bouche. *Revue Française d'allergologie*. volume : 50, Pages 109–123.
- ❖ **González-Molina E., Domínguez-Perles R., Moreno D.A., García-Viguera C (2010).** Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *Journal of pharmaceutical end biomedical*, volume 51, 327-345.
- ❖ **Gottwald T.R., Graham J.H., Schubert T.S (2002).** Citrus canker: The pathogen and its impact. Online. *Plant Health Progress* (42), p : 152-160.
- ❖ **Grisoni M (1996).** La Tristeza : une maladie grave des agrumes. *Magazine CIRAD* (4), p: 6-7.
- ❖ **Guilhem J (2007).** Un 5 à 7 de détente en Aromathérapie. Conférence du Samedi 24 Mars 2007. *Pharmacora* 24,25,26 Mars. Paris expo, porte de versalles.
- ❖ **Guillaumin J. et Legrand P (2005).** L'armillaire et le pourridié agaric des végétaux ligneux, ed . INRA, 487 p.
- ❖ **Guimaraes R., Joao Sousa M., Ferreira A.I.C.F.R (2010).** Contribution of Essential Oils and Phenolics to the Antioxidant Properties of Aromatic Plants. CIMO/ Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, *Campus* de Santa. Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Haineault S (2011)**. Les Vertus Thérapeutiques des agrumes, 3<sup>ème</sup> édition Quebecor : 152 pp
- ❖ **Harley I. M., Richard S. B., Smith V.E, Deborah W., Craig R. E (2006)** *Citrus* (citrus) and *Fortunella* (kumquat). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry, p: 2-22.
- ❖ **Hellal Z (2011)**. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extradites des citrus. Application sur la sardine (*sardina pilchardus*), thèse de magister en biologie, tizi ouzou: 1-77.
- ❖ **Henriquez C. and Lissi E (2002)** Evaluation of the extinction coefficient of the ABTS derived radical cation. **Bol. Soc. Chil. Quím. Vol.47, No.4, 363-366**
- ❖ **Himed L (2010)**. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus limon : application à la margarine. Thèse de Magister .Université MENTOURI – Constantine. 42.
- ❖ **Hosni K. Zahed N. Chrif. R. Abid I. Medfei W. Kallel M. Ben Brahim N. and Sebei H. (2010)**. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian *Citrus* species: Evidence for the genotypic influence. 123(4): 1098–1104.
- ❖ **HUANG P.N., MAU J.L., HUANG S.I., and CHEN C.C (2004)**. Antioxidant properties of methanolic extracts from two kinds of *Androeda* camphorate mycella, Food Chemistry. 86, 25 – 31.
- ❖ **Ijaz Hussain A, F Anwar, Sherazi TH, Przybylski R (2008)**. Chimique activités composition, antioxydantes et antimicrobiennes de basilic (*Ocimum basilicum*) huiles essentielles dépend des variations saisonnières. *Nourriture Chem.* 108: 986-995.
- ❖ **Ippolito A., Schena L., Nigro F., Soleti L., Yaseen T (2004)**. Real-time detection of *Phytophthora nicotianae* and *P. citrophthora* in citrus roots and soil. *European Journal of Plant Pathology* (110), p: 833–843.
- ❖ **Isshiki A.K, Akimitsu M., Yamamoto M., Yamamoto H (2001)**. Endopolygalacturonase Is Essential for Citrus Black Rot Caused by *Alternaria citri* but Not Brown Spot Caused by *Alternaria alternate*. (14), p: 749–757.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Jeannot V., Charboun J., Russell D., Baret P (2005).** Quantification and determination of chemical composition of essential oil extracted from natural orange Blsson water(citrus aurantium L. ssp. Aurantium) international journal of aromtherapy, 15(2), p : 94-97
- ❖ **Kamal GM., Anwar F., Hussain AI., Sarri N. et Ashraf MA., 2011.** Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles *d'agrumes* tel que modifié par prétraitement de séchage des écorces. International Food Research Journal 18 (4): 1275-1282.
- ❖ **Kimball D.A (1999).** Description of citrus fruits. In:”citrus processing: A complete guide”.Ed. An Aspen publication. (2), p: 7-35.
- ❖ **Kranl K., Schlesier K., Bitsch R., Hermannn H., Roche M. and Bohn V (2005).** Comparing antioxydative food additives and secondary plants products – use of different essays. Food Chemistry, 93: 171-175.
- ❖ **Krug C.A (1943).** Chromosome numbers in the subfamily Aurantioidene with special reference to the genus *Citrus*. *Bot. Gaz.*, (48), p: 602-611.
- ❖ **Lahlou M (2004).** Methods of Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils; Phytotherapy Research 18; WILEY & SONS; p: 435- 448.
- ❖ **Lawrence B. M (2009).** A preliminary report on the world production of some selected essential oils and countries. *Perfumer & Flavorist*. 34: 38.
- ❖ **Li H.Y., Hao Z.B., Wang X. L., Huang L. and Li J. P (2009).** Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Bioresource Technology*, **100**: 970-974.
- ❖ **Lota M.L., De Roccaserra D, C Jacquemond, Tomi F, J Casanova (2002).** La variabilité chimique des huiles essentielles des feuilles de peau et de Sour Orange. *Saveur. Fragr. J.* 16: 89-96.
- ❖ **Lu F & Foo L.Y., 2001.** Antioxidant activity of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*).*Food Chemistry*.75, p:197-202.
- ❖ **Luro F., Venturini N., Costantino G., Paolini J., Ollitrault P. ,Costa J (2012).** Genetic and chemical diversity of citron (*Citrus medica* L.) based on nuclear and cytoplasmic markers and leaf essential oil composition. *Phytochemistry* (77), p: 186–196.
- ❖ **Luroi F., Lorieux F., Ollétrault P (1994).** Cartographie du génome des agrumes à l’aide des marqueurs moléculaire et distorsions de ségrégation.

technique et utilisation des marqueurs moléculaires, ed INRA paris, p: 70-82.

- ❖ **Majnooni M-B., Mansouri K., Gholivand M-B., Mostafaie A., Mohammadi-Motlagh H. R., Afanzade N. S., Abolghasemib M. M et Piriyaie, M. (2012).** La composition chimique, la cytotoxicité et activités antioxydant de l'huile essentielle des feuilles de *Citrus Aurantium L.* *Revue africaine de la biotechnologie.* **11 (2) :** 498-503.
- ❖ **Malhotra S, S Suri, Tuli R (2009).** L'activité antioxydante des cultivars *d'agrumes* composition chimique et de *Citrus karna* huile essentielle. *Planta Med.* 75: 62-64
- ❖ **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. et Kefalas P., 2005.** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry.* (89) : 411-420.
- ❖ **Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand, C., Baccaunaud M., Fritsch P (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments ; *Médecine Sciences*, Volume 20, numéro 4, 458-463.
- ❖ **Marc S., Brisbar, S., Diavin, A., Baccaunaud, and Serrand, C. (2004).** Evaluation du pouvoir antioxydant (E.E.A.C) d'extraits de végétaux en vu d'utilisation alimentaires. *International journal of sciencde and technology.* 24(5) : 393-414.
- ❖ **Matheron M. E., Porchas M., Bigelow D.M (2006).** Factors Affecting the Development of Wood Rot on Lemon Trees Infected with *Antrodia sinuosa*, *Coniophora eremophila*, and a *Nodulisporium* sp. *Plant Disease* (90), p: 554-558.
- ❖ **Matthews R. F., Braddock R. J. (1987).** Recovery and applications of essential oils from oranges. *Food Technology.* 41(1): 57-61.
- ❖ **Molyneux P (2004).**The use of the stable free radical diphenylpicryldrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songhklanakaran J. Sci. TEChnol*, 26 (2):211-219.
- ❖ **Mondello L., Casilli A., Tranchida P. Q., Cicero L., Dugo P., Dugo G (2003).** Comparison of fast and conventional GC analysis for citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51(19): 5602-5606.

- ❖ **Mondello L., Casilli A., Tranchida P. Q., Dugo P., Dugo G. (2005).** Comprehensive two-dimensional GC for the analysis of citrus essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 20(2): 136-140.
- ❖ **MUHAMMAD Mushtaq A., Rahman S., Iqbal Z., Anjum F. and Sultan J (2006).** Genetic variability to essential oil composition in four citrus fruit species, Institute of Food Science and Technology, University of Agriculture, Faisalabad. Pakistan. 38(2): 319-324.
- ❖ **Nasuti S., Sariri R., Aghamaali M.R., Ghafoori H., Shahmohamadi R. (2011).** In Vitro Antioxidant Activity of Extracts from Wastes of Five Iranian Citrus Species. University de Guilan, Rasht, Iran. *Pharmacologyonline* 3: 853-859.
- ❖ **Normand F (1992).** Ravageurs du manguier et des agrumes au Nord-Cameroun -Mangond citrus insect pests of economic importance in northern Cameroon. *Fruits*, (2), p: 309-316.
- ❖ **Ollitrault P., Michaux-Ferrière N (1992).** A critical study of the technique of flow cytometry applied to plant breeding: results achieved for some citrus species; *Fruits*, (47), p: 195-203.
- ❖ **Otero R., Nu-nez V., Barona J., Fonnegra R., Jimenez S.L., Osorio R.G., Saldarriaga M. et Diaz A (2000).** Morsures de serpent et ethnobotanique dans la région nord-ouest de la Colombie. Partie III. Neutralisation de l' effet hémorragique de *Bothrops atrox* venin. *Journal des Ethnophar-logie*, (73), p : 233-341.
- ❖ **Oyaizu M (1986).** Studies on products of browning reaction: antioxydative activities of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese journal of Nutrition*, 44 : 307-315.
- ❖ **Pauli A. (2001).** Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. Journal Aromather*. 11, 126-133.
- ❖ **Pincemail J., Bonjean, K., Cayeux K. et Defraigne J.O (2002)** Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16: 233-239.
- ❖ **Polese J. M (2008).** la culture des agrumes .édition artémis. p 94
- ❖ **Ponce A. G., del Valle C. E., Roura S. I. (2004).** Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensm.-Wiss. U.- Technol*. 7 : 199-204.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS Radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology et Medicine*. **26 (9/10):** 1231-1237.
- ❖ **Ricci P., Pope C.F., Panabieres A., Marais F. et Augé G (1990).** Caractères comparés des espèces de *Phytophthora* pathogènes des agrumes. *EPPO Bulletin*. [\(1\).p:](#) 19–28.
- ❖ **Siddique S., Shafique M., Parveen Z., Khan S. J et Khanum R (2011).** Activity des Agrumes *Auravarn consortium*. *Amer ORAGE PEEL OIL. Pharmacologyonline*. **2:** 499-507.
- ❖ **Skaria B.P. et al., (2007).** *Aromatic Plants* ; Ed: new India publishing agency; p: 37-43.
- ❖ **Souci SW., Fachmann W., Kraut H (1995).** *Food composition and nutrition tables*. 6th ed. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.p : 352-354.
- ❖ **Sutour S (2010).** Etude de la composition chimique des huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats. Thèse de doctorat en chimie organique et analytique. Université de Corse Pascal Paoli.p :1-213.
- ❖ **Tian, Q., Miller, EG, Ahmad, H., Tang, L., Patil, BS (2001).** Differential inhibition of human cancer cell proliferation by citrus limonoids. *Nutrition and Cancer* 40, 180–184.
- ❖ **Trabut L (1926).** La Clementine, les hybrides de Citrus. *Dir. Bot*, p: 126.
- ❖ **Valnet J (1984).** *Aromathérapie, traitement des maladies par es plantes* 10<sup>ème</sup> Edition : Maloine SA 192 -196.
- ❖ **Virbal-Alonso C (2011).** Citron et autres agrumes .Groupe ayrolles. 978-2-p :139.
- ❖ **Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J (2008).** Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils, *Food Control*. Volume 19, Pages 1130–1138.

## Premier Chapitre

---

- ❖ **Wilson R (2002).** Aromatherapy: Essential oils for Vibrant Health and Beauty; Ed: Penguin putnam; p: 1- 24.