



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de  
l'Univers



**Département de Biologie**  
*Laboratoire « Produits Naturels » (LAPRONA)*

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

## MEMOIRE

En vue de l'obtention du **Diplôme de MASTER en BIOLOGIE**  
**Filière : Sciences biologiques**  
**Spécialité : Biochimie Appliquée**

Présenté par :  
**TISSOURASSI Bakhti**  
**REFAFA Mohamed Ilies**

### *Thème*

**Contribution à l'étude des rendements et des activités  
biologiques de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina*  
L. (Clémentine)**

Soutenu, le 28 / 06 / 2022, devant le jury composé de :

**Président :**

**M<sup>elle</sup> BENARIBA N.**

**Maître de Conférences « A »**

**Université de Tlemcen**

**Examineur :**

**M<sup>me</sup> BEKKARA M.**

**Maître de Conférences « B »**

**Université de Tlemcen**

**Encadreur :**

**M<sup>me</sup> BEKHECHI C.**

**Professeur**

**Université de Tlemcen**

# *Remerciements*

*Tout d'abord, nous exprimons nos profonds REMERCIEMENTS à ALLAH qui nous a donné la santé, le courage, la volonté, la patience, et nous a facilité le chemin pour achever ce fruit de plusieurs d'années d'étude.*

*Nous tenons avant tout à spécifier notre remerciement à notre encadreur Madame « Mme BEKHECHI Chahrazed », Professeur au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers ; Université de Tlemcen Abou Bekr Belkaid ; pour avoir accepté de diriger ce mémoire, pour ses conseils hautement précieux qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail, son soutien, sa patience, ses conseils, ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire et surtout pour sa disponibilité.*

*Un grand merci aux membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous font de juger et examiner notre travail.*

*A M<sup>elle</sup> BENARIBA N., Maître de conférences Classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*A M<sup>me</sup> BEKKARA M., Maitre de conférence Classe B au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et l'univers, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, d'avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*Nous remercions également M<sup>f</sup> MALTI Charaf Eddine Watheq, Maître assistant, à l'université Relizane, pour son aide, et pour sa disponibilité au laboratoire..*

*Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

♥ *A mon cher père, Tissourassi Boumediene*

♥ *A ma chère mère, Téfiani Nacéra*

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, me soutenir et de m'épauler pour je puisse atteindre mes objectifs.*

♥ *A mes chers frères, Mohamed, Hicham*

♥ *A ma chère sœur, Fatima*

*Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

♥ *A mon cher binôme : Refafa Mohamed Ilies*

*Pour son entente et sa sympathie*

♥ *A mes ami(e)s : Abdeldjalil, Zaari, Oussama, Housseem,*

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles*

♥ *A toute ma famille, mes tantes, Zoubida et Fatiha, mes proches,*

*mes nièces, Youcef et Nour et à ceux qui me donnent de*

*l'amour. siham*

♥ *A tous ceux que j'aime*

*Puisse Dieu vous donner santé et bonheur*

♥ *Bakhti*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

♥ *A Mon cher père, pour tous les conseils, pour tous les encouragements et pour tous les incommensurables sacrifices consentis pour toute ma formation.*

♥ *A ma chère mère, tu as été pour moi la meilleure des mères en ma vie, tu restes le plus beau thème, ton amour pour moi, aujourd'hui encore, la joie sème. Il me reste la douceur de tes sourires, l'éclat de ton visage. Mes souvenirs de toi sont une source de Bonheur. Je t'aime tellement ... Tu me manques en toute heure. \* JE NE T'OUBLIERAI JAMAIS \* Repose en Paix Ma Mère Bien - aimée ! Nous nous rencontrerons au paradis, inchallah.*

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour je puisse atteindre mes objectifs*

♥ *Mes plus sincères remerciements à mon frère, mes sœurs et toute ma famille de près ou loin. Nous demandons à Dieu Tout - Puissant de les habiller de vêtements de santé et de bien ♥*

*Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

♥ *A mon cher binôme : **Tissourassi Bakhti**  
Pour son entente et sa sympathie*

♥ *A tous mes amies sans exception surtout avec lesquelles j'ai connue des moments agréables.*

♥ *A tous ceux que j'aime  
Puisse Dieu vous donner santé et bonheur*

♥ ***Ilies***

# Résumé

*Citrus clementina* est l'un des agrumes les plus importants connus pour avoir été largement cultivé dans le monde, c'est un arbre vivace et à feuilles persistantes.

Dans ce présent travail, nous nous sommes proposé de déterminer les rendements et d'évaluer les activités biologiques (antioxydante et antifongique) de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* (Clémentine).

Nous avons prélevé 20 échantillons (10 échantillons dans la station d'El Fehoul et 10 échantillons dans la station de la cité des oliviers) sur des pieds individuels. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. L'épicarpe des fruits de cette espèce végétale est riche en huile essentielle, avec des rendements variables, allant de 0,29 à 0,99%.

Ensuite, nous avons regroupé l'huile essentielle des différents échantillons de la même station pour avoir suffisamment d'huile essentielle et pouvoir effectuer les activités biologiques. Ainsi, nous avons constitué deux échantillons « communelle » (E1 et E2).

La deuxième partie a été consacrée à l'étude des activités biologiques. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la méthode de la réduction du radical DPPH. Les deux échantillons testés possèdent un faible pouvoir antioxydant par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique ( $CI_{50}$  :  $103,44 \pm 3,16$  et  $97,49 \pm 5,15$  mg/ml contre  $0,02 \pm 0,001$  mg/ml). Enfin, nous avons testé l'activité antifongique de l'huile essentielle des deux échantillons par la méthode de diffusion sur disque et la méthode du contact direct vis-à-vis de trois souches fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*). *Aspergillus fumigatus* s'est révélé le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon E2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 10,3 mm et une CMI élevée, de l'ordre de 6 µl/ml. Cependant, cette sensibilité reste faible.

**Mots clés :** *Citrus clementina* Hort. ex Tanaka, huile essentielle, rendement, activité antioxydante, DPPH,  $CI_{50}$ , pouvoir antifongique.

# Abstract

*Citrus clementina* is one of the most important *Citrus* fruits known to be widely cultivated in the world; it is a perennial and evergreen tree.

In the present work, we set out to determine the yields and evaluate the biological activities (antioxidant and antifungal) of the essential oil of the peel of *Citrus clementina*.

We are collected 20 samples (10 samples from the El Fehoul station and 10 samples from the cité des oliviers station) from individual plants. The essential oils were obtained by hydrodistillation with a Clevenger type apparatus. The epicarp of the fruits of this plant species is rich in essential oil, with variable yields, ranging between 0.29 to 0.99%.

Then, we were pooled the essential oil from the different samples from the same station in order to have enough essential oil to perform the biological activities. Thus, we were constituted two "common" samples (E1 and E2).

The second part was devoted to the study of biological activities. The antioxidant power was evaluated by the DPPH radical reduction method. The two samples tested have a low antioxidant power compared to the reference compound, ascorbic acid ( $IC_{50}$  :  $103.44 \pm 3,16$  and  $97.49 \pm 5,15$  mg/ml against  $0.02 \pm 0.001$  mg/ml). Finally, we tested the antifungal activity of the essential oil of both samples by the disc diffusion method and the direct contact method against three fungal strains (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*). *Aspergillus fumigatus* was the most sensitive to the essential oil in the E2 sample, with a diameter of the inhibition zone of about 10.3 mm and a high MIC of about 6  $\mu$ l/ml. However, this sensitivity remains low.

**Key words:** *Citrus clementina* Hort. ex Tanaka, essential oil, yield, antioxidant activity, DPPH,  $IC_{50}$ , antifungal power.

# المخلص

تعتبر *Citrus climentina* من أهم ثمار الحمضيات المعروفة بزراعتها على نطاق واسع في العالم، وهي شجرة معمرة ودائمة الخضرة.

في هذا العمل الحالي، اقترحنا تحديد المرذود وتقييم الأنشطة البيولوجية (مضادات الأكسدة ومضادات الفطريات) للزيت الأساسي لقشور *Citrus clementina* (كليمنتين).

أخذنا 20 عينة (10 عينات في محطة الفحول و10 عينات في محطة حي الزيتون) على أقدام فردية. تم الحصول على الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي بجهاز من نوع Clevenger. قشرة ثمار هذا النوع من النبات غنية بالزيت الأساسي، مع مردودية متغيرة تتراوح من 0.29 إلى 0.99%.

بعد ذلك، قمنا بتجميع الزيت الأساسي لعينات مختلفة من نفس المحطة للحصول على زيت أساسي كافٍ للقيام بالأنشطة البيولوجية. وهكذا، قمنا بتكوين عينتين "جماعيتين" (E1 و E2).

خصص الجزء الثاني لدراسة الأنشطة البيولوجية. تم تقييم قوة مضادات الأكسدة من خلال طريقة الاختزال الجذري DPPH. تتمتع العينتان المختبرتان بقدرة منخفضة من مضادات الأكسدة مقارنة بالمركب المرجعي، حمض الأسكوربيك ( $CI_{50} : 103.54 \pm 3,16$  و  $97.50 \pm 5,15$  ملغ/مل مقابل  $0.001 \pm 0.02$  ملغ/مل). أخيراً، قمنا باختبار النشاط المضاد للفطريات للزيت الأساسي للعينتين بطريقة الانتشار القرصي وطريقة الاتصال المباشر ضد ثلاث سلالات فطرية

(*Fusarium oxysporum* و *Aspergillus flavus* و *Aspergillus fumigatus*). ثبت أن

*Aspergillus fumigatus* هو الأكثر حساسية للزيت العطري لعينة E2، بقطر منطقة التثبيط

بترتيب 10.3 مم و CMI عالي بترتيب 6 ميكرو لتر/مل. ومع ذلك، تظل هذه الحساسية منخفضة.

**الكلمات المفتاحية:** *Citrus clementina* Hort. ex. Tanaka، الزيت الأساسي، المرذود،

نشاط مضاد للأكسدة، DPPH،  $CI_{50}$ ، قوة مضادة للفطريات.

# Table des matières

Remerciements

Résumé

Abstract

الملخص

Table des matières

Table des illustrations

Liste des abréviations

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Première partie : Synthèse bibliographique .....</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre 1 : Généralité sur les agrumes.....</b>	<b>5</b>
1. Origine et historique.....	5
2. Définition.....	5
3. Les agrumes dans le monde et en Algérie.....	8
3.1. Les agrumes dans le monde.....	8
3.2. Les agrumes en Algérie.....	10
3.2.1. Situation de l'agrumiculture en Algérie.....	10
3.2.2. Localisation.....	10
3.2.3. Les agrumes à Tlemcen.....	11
<b>Chapitre 2 : Généralités sur l'espèce <i>Citrus clementina</i>.....</b>	<b>12</b>
1. Famille des Rutacées.....	12
1.1. Description de la famille des Rutacées.....	12
1.2. Description et classification botanique des agrumes .....	12
1.3. Les différentes parties du fruit des agrumes .....	13
2. Le genre <i>Citrus</i> .....	14
3. Les principales espèces du genre <i>Citrus</i> .....	14
4. Description botanique et classification de l'espèce « <i>Citrus clementina</i> ».....	15
4.1. Description botanique.....	15
4.2. Classification .....	15
4.3. Les variétés des clémentines.....	16
5. Travaux antérieurs .....	17
5.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citrus clementina</i> .....	17
5.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Citrus clementina</i> .....	20
6. Huile essentielle des agrumes .....	22

7. Utilisation et effets thérapeutiques des fruits de genre <i>Citrus</i> .....	23
<b>Deuxième partie : Partie expérimentale.....</b>	<b>24</b>
1. Matière végétale.....	25
1.1. Situation géographique des stations d'étude.....	25
1.2. La récolte de la matière végétale.....	26
2. Extraction des huiles essentielles.....	27
3. Calcul des rendements en huile essentielle .....	27
4. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de la clémentine.....	28
4.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Citrus clementina</i> .....	28
4.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) .....	29
4.2. Activité Antifongique de l'huile essentielle de <i>Citrus clementina</i> .....	30
4.2.1. Provenance des germes .....	30
4.2.2. Mise en culture des souches .....	30
4.2.3. Méthodes d'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles.....	30
4.2.3.1. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	31
4.2.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé .....	31
<b>Troisième partie : Résultats et discussion.....</b>	<b>32</b>
1. Extraction des huiles essentielles et calcul des rendements .....	33
2. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> .....	35
2.1. Etude de l'activité antioxydante .....	35
2.2. Etude de l'activité antifongique .....	37
2.2.1. Détermination de l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque.....	37
2.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé .....	39
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>43</b>
<b>Annexe.....</b>	<b>51</b>

# Table des illustrations

## Liste des photos

<b>Photo 1 :</b> Un clémentinier en pleine fructification.....	15
<b>Photo 2 :</b> Photo d'un arbre de clémentinier et situation géographique du lieu de récolte.....	26
<b>Photo 3 :</b> Photo d'un arbre de clémentinier et situation géographique du lieu de récolte.....	26
<b>Photo 4 :</b> Dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger.....	27
<b>Photo 5 :</b> Inhibition faible d' <i>Aspergillus fumigatus</i> par l'huile essentielle de l'échantillon E2.....	38
<b>Photo 6 :</b> Inhibition totale d' <i>Aspergillus fumigatus</i> par l'huile essentielle de l'échantillon E2 à la concentration 6 µl/ml.....	39

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Origines géographiques et diffusion des agrumes dans le monde.....	7
<b>Figure 2</b> : Principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde.....	8
<b>Figure 3</b> : Production des petits agrumes dans le monde (2019-2020).....	8
<b>Figure 4</b> : Production des oranges dans le monde (2019-2020).....	9
<b>Figure 5</b> : Répartition des superficies agrumicoles par région.....	10
<b>Figure 6</b> : Evaluation de la production des agrumes en Algérie entre 2016 et 2017, par type d'agrumes (en milliers de quintaux).....	11
<b>Figure 7</b> : Distribution géographique des Rutacées.....	12
<b>Figure 8</b> : Caractéristique morphologique d'un agrume.....	14
<b>Figure 9</b> : Situation géographique des lieux de prélèvement dans la région de Tlemcen.....	25
<b>Figure 10</b> : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	29
<b>Figure 11</b> : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> récolté dans la station d'EL Fehoul.....	33
<b>Figure 12</b> : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> récolté dans la station de la cité des oliviers.....	33
<b>Figure 13</b> : Comparaison des rendements (en%) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> récolté dans les deux stations.....	34
<b>Figure 14</b> : Moyenne des rendements (en %) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> récolté dans les deux stations.....	34
<b>Figure 15</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> (E1).....	35
<b>Figure 16</b> : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> (E2).....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les 10 premiers pays producteurs des petits agrumes (En tonnes).....	9
<b>Tableau 2</b> : Les 10 premiers pays producteurs des oranges (En tonnes).....	9
<b>Tableau 3</b> : Total des exploitations dont : fermes pilotes.....	10
<b>Tableau 4</b> : Composées majoritaires identifiés dans l'huile essentielle du zeste de clémentine selon la littérature.....	19
<b>Tableau 5</b> : Origines des souches fongiques utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	30
<b>Tableau 6</b> : Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle du zeste de <i>C. Clementina</i> des deux échantillons exprimée en $CI_{50}$ .....	37
<b>Tableau 7</b> : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (E1 et E2) de l'huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> relatives aux souches fongiques selon la méthode de disque.....	37
<b>Tableau 8</b> : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle du zeste de <i>Citrus clementina</i> relatives aux souches fongiques testées.....	39

# Liste des abréviations

**ITAF** : Institut des techniques de l'arboriculture fruitière

**ITAB** : Institut des techniques d'agriculture biologique

**DSA** : Direction de service agricole

**FAO** : Food and Agriculture Organisation

**MADRP** : Ministère de l'Agriculture, du développement Rural et des pêches

**DO** : Densité Optique

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**HE** : Huile Essentielle

## *Introduction*

On ne peut évoquer les agrumes sans avoir aussitôt à l'esprit deux données : l'importance de ces fruits pour l'alimentation humaine et le grand nombre des publications qui s'y rapportent.

Si les agrumes représentent 30% du commerce mondial des principaux fruits frais, une quantité plus grande encore est consommée sur les lieux de production, dans une aire s'étendant du Cap de Bonne-Espérance au bassin méditerranéen, de l'Argentine à la Californie et de l'Australie au Japon.

Recherchées pour leur saveur ou leur arôme, les nombreuses espèces et variétés d'agrumes constituent un appoint important à la ration vitaminique nécessaire à l'homme, qu'elles complètent sous une forme fort agréable (**Praloran *et al.*, 1971**).

De nos jours, les huiles essentielles (HEs) suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, biologistes,... et médecins en raison de leurs utilisations dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles, les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs, ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimiques de synthèse (**Ouis, 2015**).

De plus, ces derniers temps, l'apparition de la résistance des souches microbiennes aux médicaments est devenue un problème très fréquent ce qui pousse les populations à l'utilisation des vertus antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes médicinales.

En plus de l'augmentation de la fréquence des infections dues aux germes multi-résistants, il y a les radicaux libres qui lorsqu'ils sont en surcharge, ils provoquent le stress oxydatif. Ce dernier peut provoquer de nombreuses pathologies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, etc. C'est pour cela que les scientifiques s'intéressent à la recherche de l'activité anti-radicalaire des plantes médicinales pour minimiser l'influence de ces radicaux libres sur les cellules humaines.

La flore algérienne est très diversifiée, ceci a rendu la recherche et l'évaluation des activités biologiques des plantes médicinales très intéressante et indispensable.

En général, les huiles essentielles des agrumes ont été reconnues comme une ressource importante naturelle, elles possèdent un atout considérable et jouissent d'une popularité grâce à la découverte progressive de leurs propriétés : antibactérienne, anti-inflammatoire, antiseptique, antivirale, antifongique, antioxydante, stimulante, calmante et relaxante (**Hosni, 2010**).

La production d'huile essentielle à partir des écorces d'agrumes est souvent réalisée par des méthodes traditionnelles comme la distillation à la vapeur à l'échelle commerciale (**Masango, 2005**).

## *Introduction*

Dans ce contexte, nous nous sommes proposés d'une part, de déterminer les rendements en huile essentielle de plusieurs échantillons récoltés à partir de pieds individuels et d'autre part d'évaluer les activités biologiques : antioxydante et antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* L. récolté dans la région de Tlemcen.

Ce mémoire est structuré en trois grandes parties :

La première partie concerne la synthèse bibliographique qui regroupe la description botanique des agrumes et en particulier l'espèce *Citrus clementina* L., les propriétés thérapeutiques et les travaux antérieurs des huiles essentielles de cette plante.

La deuxième partie concerne les données expérimentales dont laquelle, nous détaillons la cueillette du matériel végétal, l'extraction des huiles essentielles du zeste des clémentines. Ensuite, nous décrivons les méthodes utilisées pour l'évaluation des activités biologiques : antioxydante et antifongique.

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

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

### **Chapitre I : Généralités sur les agrumes**

#### **1. Origine et Historique**

Les agrumes sont originaires d'Asie tropicale et subtropicale. Ils se confondent avec l'histoire des civilisations anciennes de la Chine, qui les cultivent d'abord pour leurs parfums puis pour leurs fruits (**Biche, 2012**).

Les renseignements les plus anciens, tirés de livres religieux et historiques, datent d'une période comprise entre 2 400 et 800 avant J.-C. pour la Chine, antérieurs à 800 avant J.-C. pour l'Inde, mais les textes laissant entendre une pratique de cette culture sont plus récents et les auteurs s'accordent pour admettre que la culture des agrumes a pris naissance, aussi bien en Inde qu'en Chine, pendant le premier millénaire avant J.-C. (**Praloran et al., 1971**). C'est avec le rayonnement des civilisations chinoises et hindoues que leur culture commença à se propager (**Loussert, 1987a**).

Le fruit amer croît spontanément dans les parties montagneuses du Nord-est de l'Inde et de la Chine du Sud, l'oranger doux s'y trouve aussi et ne serait qu'une forme du précédent. Le citron, le cédrat, le limettier viennent du Sud de l'Himalaya, le pamplemousse abonde dans certaines îles de l'archipel de la Sonde. Le mandarinier est indigène en Chine et en Indochine (**Morel, 1969**). Ils se sont développés un peu plus tard au Maghreb et en Espagne par les Arabes. Le bigaradier fut introduit par ces derniers dans l'empire des Almohades, d'ailleurs en Algérie, il embellissait déjà les jardins des Beys (Casbah, hauteurs d'Alger et Constantine) pendant la période Ottomane (du 16 au 18 siècle) (**Figure 1**). Quelques siècles après, les Maures d'Andalousie ont importé l'oranger ; et le mandarinier fut introduit au début de la colonisation en 1850 par Hardy en Algérie, par la suite le père Clément de l'orphelinat agricole de Misserghin (wilaya d'Oran), lorsqu'il a effectué un croisement de mandarinier avec l'oranger, a pu découvrir la clémentine qui s'est avérée une variété prématurée parmi le groupe des mandarines (**Hamdani, 2018**).

Assez curieusement, l'oranger, devenu à notre époque le plus important des agrumes, fut remarqué beaucoup plus tardivement (**Praloran et al., 1971**).

#### **2. Définition**

Le mot « agrume » vient du latin « acrimen : aigre », signifiant l'antiquité des arbres fruitiers acides. C'est un nom qui est donné par les italiens. L'agrume (ou Hespéride) se définit par sa structure en quartier appartenant à la famille des Rutacées, à la sous famille des Aurantioideae. Il désigne un ensemble d'espèces appartenant au genre botanique « *Citrus* ».

## *Synthèse bibliographique*

Ce sont les orangers, les citronniers et les mandariniers (Seif, 1993 ; Kuate, 1994 ; Imbert, 2005 ; Ladanya, 2010).

Les agrumes comprennent six genres fertiles: *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* et *Clymenia* (Dugrand-Judek, 2015).

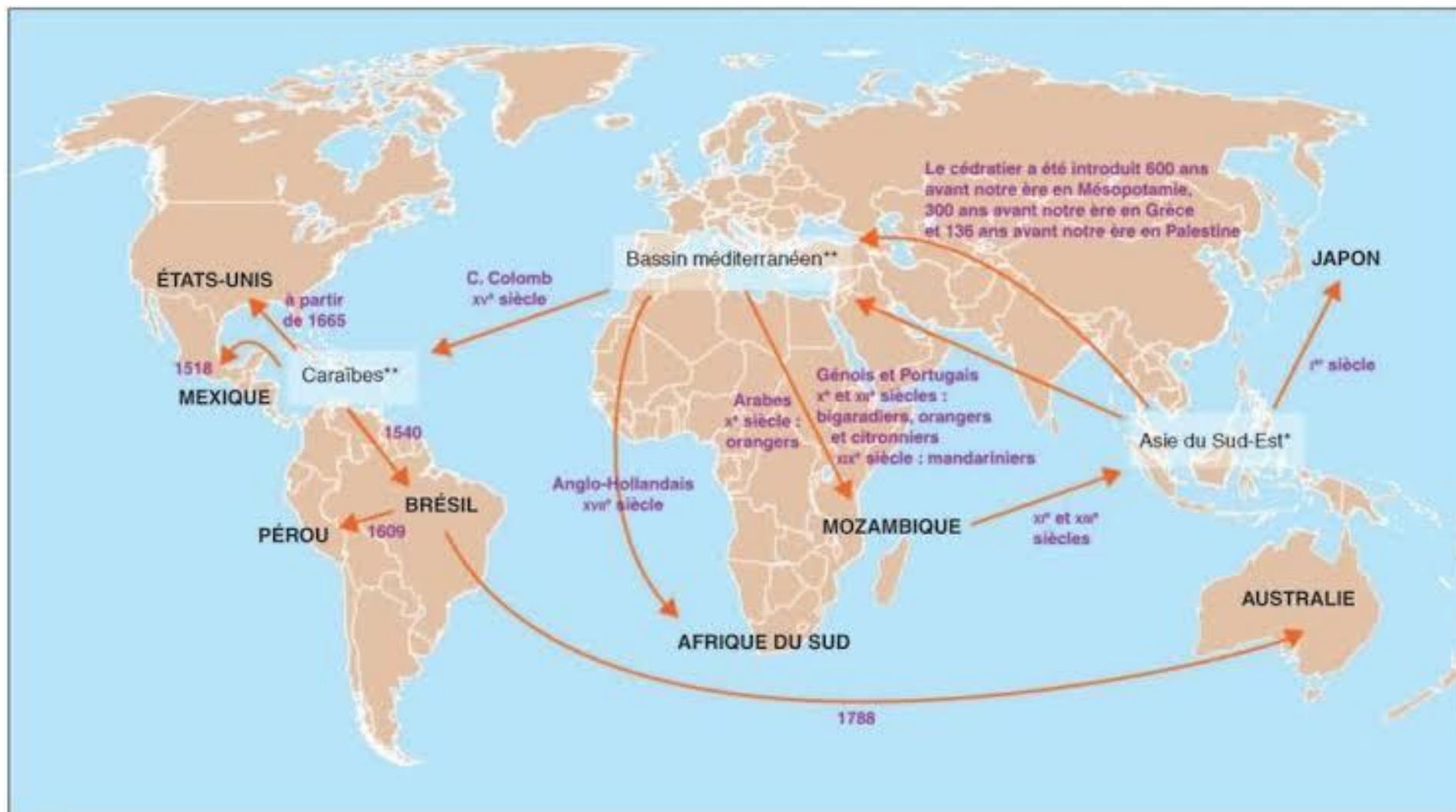


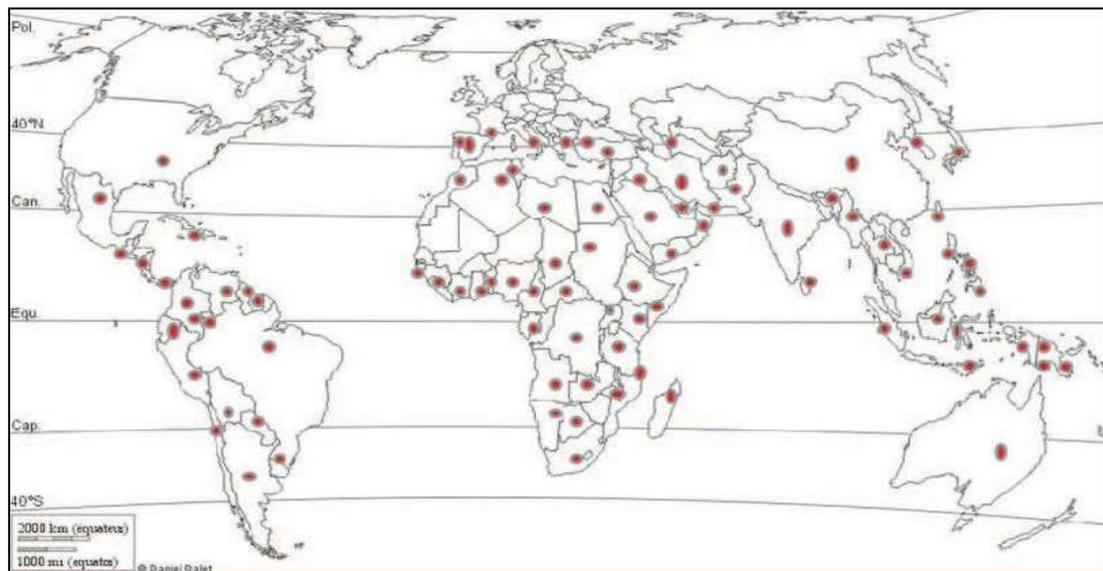
Figure 1 : Origines géographiques et diffusion des agrumes dans le monde (Jacquemond *et al.*, 2013)

\*Origine et aire de répartition primaire \*\* aires de répartition secondaire

### 3. Les agrumes dans le monde et en Algérie

#### 3.1. Les agrumes dans le monde

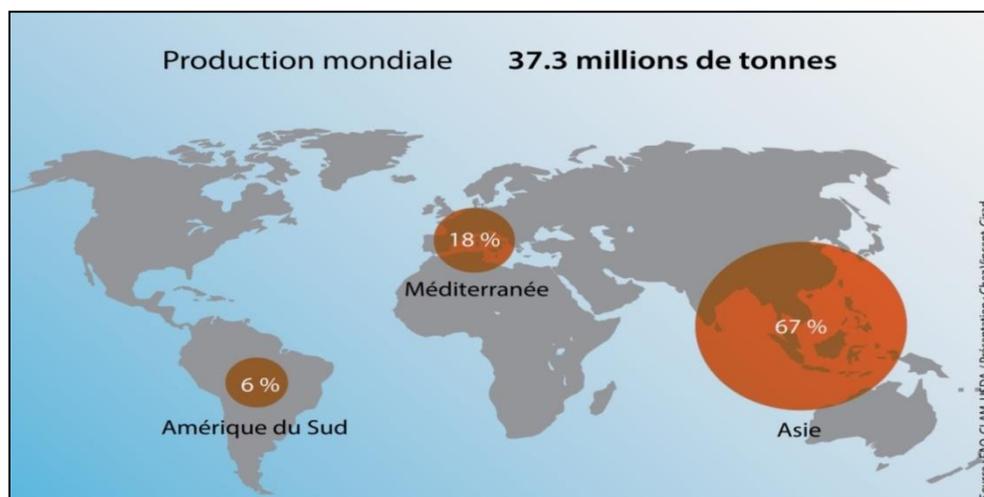
La production des agrumes provient principalement des régions méditerranéennes et tropicales. En conséquence, ils sont désormais implantés dans toutes les régions de production possible du monde (**Figure 2**) (Ndoeunice Golda, 2011).



**Figure 2 : Principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde (Ndoeunice Golda, 2011)**

- *Petits agrumes (production 2019-2020)*

Malgré l'importance de la culture moderne des agrumes, le Brésil, le bassin méditerranéen, la Chine et les États-Unis contrôlent à eux seuls les deux tiers de la production mondiale d'oranges et petits agrumes (**Figure 3, Tableau 1**), citrons et citrons verts, pamplemousse et pomélos. L'analyse de ces statistiques montre que la plus grande part de la production est concentrée dans les pays de l'hémisphère nord, où la récolte a lieu d'octobre à mai-juin (Jacquemond *et al.*, 2013).



**Figure 3 : Production des petits agrumes dans le monde (2019-2020) (Anonyme 1)**

## Synthèse bibliographique

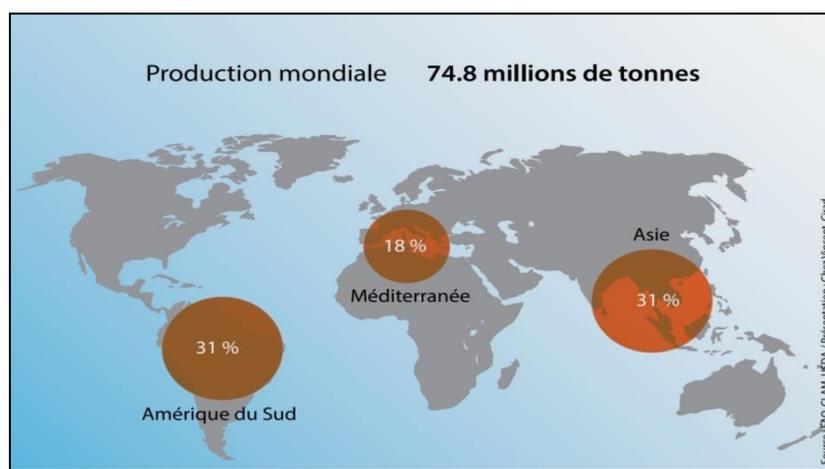
**Tableau 1 : Les 10 premiers pays producteurs des petits agrumes (En tonnes)**

Pays	2019-2020
<b>Chine</b>	22 000
<b>Espagne</b>	1 822
<b>Egypte</b>	1 466
<b>Turquie</b>	1 400
<b>Brésil</b>	997
<b>Japon</b>	952
<b>Maroc</b>	930
<b>États-Unis</b>	842
<b>Italie</b>	764
<b>Corée du Sud</b>	646

Sources : FAO, professionnels

- **Oranges (production 2019-2020)**

Pour la production des oranges (**Figure 4, Tableau 2**), le Brésil est le premier producteur dans le monde avec plus de 19 millions de tonnes. La Chine et l'Inde en 2<sup>ème</sup> et l'Etats-Unis, se classent en 3<sup>ème</sup> position avec 12% de la production mondiale d'oranges soit 6 millions de tonnes.



**Figure 4 : Production des oranges dans le monde (2019-2020) (Anonyme 1)**

**Tableau 2 : Les 10 premiers pays producteurs des oranges (En tonnes)**

Pays	2019-2020
<b>Brésil</b>	19380
<b>Inde</b>	8367
<b>Chine</b>	7200
<b>États-Unis</b>	4733
<b>Mexique</b>	4082
<b>Espagne</b>	3313
<b>Egypte</b>	3 000
<b>Indonésie</b>	2510
<b>Iran</b>	1889
<b>Turquie</b>	1700

Sources : FAO, professionnels

### 3.2. Les agrumes en Algérie

Les agrumes ont une importance économique considérable pour de nombreux pays. Il en est de même pour l'Algérie. C'est une source d'emplois et d'activité économique dans le secteur agricole et divers secteurs auxiliaires (conditionnement, transport transformation, etc.) (Farhat *et al.*, 2010).

Le verger agrumicole revêt une importance stratégique pour l'Algérie en tant que source d'approvisionnement en fruits sur le marché international des agrumes. Sur le plan social, les agrumes augmentent l'emploi en moyenne de 140 jours/ha et par an, en dehors de l'environnement de la filière (transformation, commercialisation) (ITAF, 2002).

#### 3.2.1. Situation de l'agrumiculture en Algérie

Les agrumes sont répartis dans les régions (Figure 5) suivantes :

- Centre : 39 305 ha, soit 62%.
- Ouest : 6 134 ha, soit 26%.
- Est : 6 134 ha, soit 9,7%.
- Sud : 1 404 ha soit, 2,2% (Biche, 2012).

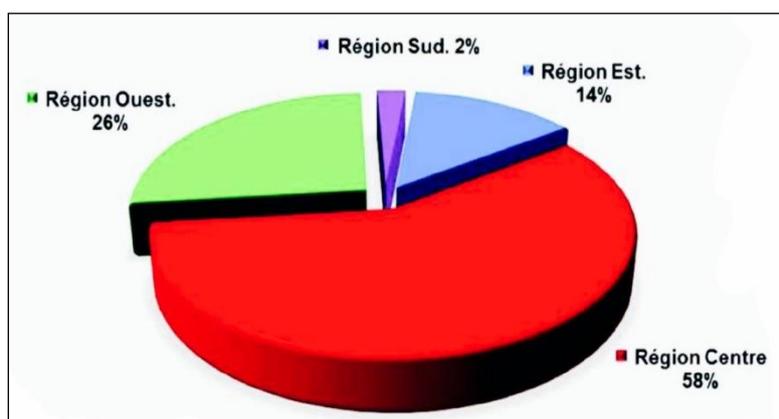
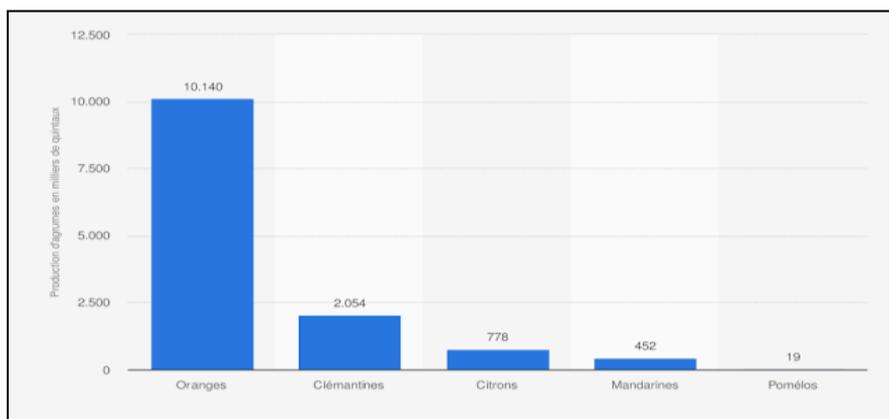


Figure 5 : Répartition des superficies agrumicoles par région (MADRP, 2013)

#### 3.2.2. Localisation

Le verger agrumicole algérien est particulièrement concentré dans les plaines littorales et sublittorales, où les conditions du sol et du climat sont favorables (Younsi, 1990). Selon ce même auteur, les principales zones agrumicoles (Figure 6) sont localisées comme suit:

- La plaine de la Mitidja.
- Le périmètre de la Mina et du Bas Chelif.
- Le périmètre de l'Habra.
- La plaine d'Annaba.
- La plaine de Skikda.



**Figure 6 : Evaluation de la production des agrumes en Algérie entre 2016 et 2017, par type d'agrumes (en milliers de quintaux) (Anonyme 2)**

### 3.2.3. Les agrumes à Tlemcen

La production des agrumes dans la wilaya de Tlemcen (**Tableau 3**) est de 364 080 q et la superficie complantée est de 2 568 ha et superficie en rapport 2 125 ha (D.S.A., 2015).

**Tableau 3 : Total des exploitations dont : fermes pilotes (D.S.A., 2015)**

Compagne agricole	2014/2015					
	Oranges			Autres agrumes		
	Superficie complantée (ha)	Superficie en rapport (ha)	Production (q)	Superficie complantée (ha)	Superficie en rapport (ha)	Production (q)
Colonne	1	2	3	4	5	6
Total des exploitations dont : fermes pilotes	943	850	161500	1107	802	127130
	43	43	7740	8	6	900
	<b>Mandariniers</b>			<b>Clémentiniers</b>		
	Superficie complantée (ha)	Superficie en rapport (ha)	Production (q)	Superficie complantée (ha)	Superficie en rapport (ha)	Production (q)
	7	8	9	10	11	12
	23	23	3450	329	300	45000
	-	-	-	5	5	600
	<b>Citronniers</b>			<b>Pomélos</b>		
	Superficie complantée (ha)	Superficie en rapport (ha)	Production (q)	Superficie complantée (ha)	Superficie en rapport (ha)	Production (q)
	13	14	15	16	17	18
166	150	27000	-	-	-	
2	2	320	-	-	-	

### Chapitre 2 : Généralités sur l'espèce *Citrus clementina*

#### 1. Famille des Rutacées

La famille tire son nom de la rue (*Ruta graveolens* L.), un petit arbuste rustique et aromatique. Elle est cultivée dans les jardins depuis des siècles comme plante médicinale. Cette famille, divisée en 150 genres et 1500 espèces (Cronquist, 1988), est principalement trouvée dans les régions tropicales et tempérées chaudes du monde (Heywood, 1996), elle est largement représentée en Afrique du Sud et en Australie (Figure 7) (Coode, 1979).

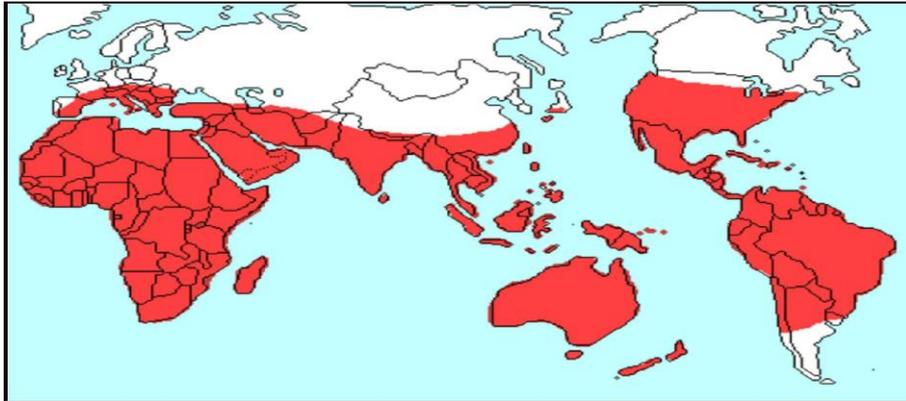


Figure 7 : Distribution géographique des Rutacées d'après Heywood (1996)

#### 1.1. Description de la famille des Rutacées

Ce sont essentiellement des arbres, des arbustes, et parfois des plantes épineuses ou plus rarement des herbes. La plupart des espèces de la famille des Rutacées ont des feuilles avec des poches sécrétrices macroscopiques et souvent aromatiques. C'est ce qu'on appelle des poches schizolysigènes qui produisent des huiles essentielles (Chaaib kouri, 2004).

#### 1.2. Description et classification botanique des agrumes

Les agrumes sont de petits arbres, ou des arbustes, atteignant de 5 à 15 m de hauteur, assez souvent épineux. Le tronc est presque cylindrique, à écorce lisse, à bois dur et à rameaux inermes ou épieux. Le feuillage (semi-persistant), d'un vert généralement très foncé (sauf *C. medica* et *C. limon* à feuilles vert clair), les jeunes plants et les jeunes pousses étant d'un vert nettement plus clair. Chez certaines espèces (*C. aurantifolia*, *C. limon*), les extrémités des nouveaux rameaux sont plus ou moins teintées de pourpre. Il est couramment admis que les agrumes vivent très longtemps.

Les études sur la morphologie et le développement des racines d'agrumes sont peu nombreuses. Quant au mode d'enracinement, il a bien fait l'objet d'observations, mais occasionnelles, lors de l'arrachage d'arbres. L'enracinement des agrumes est tout d'abord fortement pivotant. Les arbres semés en place possèdent une seule grosse racine pivotante, puis présentent deux ou trois racines substituées au pivot primitif détruit par les repiquages successifs (Praloran *et al.*, 1971).

## Synthèse bibliographique

Les fleurs sont solitaires, ou en petites grappes, blanches ou roses, à 3-4 sépales, généralement à 20 et 40 étamines plus ou moins soudées à la base, par groupes de trois, d'un ovaire à 6-14 loges, surmonté par un style. Les fleurs sont bisexuées (elles ont des organes mâles et femelles, mais la fécondation est généralement croisée).

Les graines, le plus souvent polyembryonnées (Mireille, 2002), sont en nombre variable selon les variétés et les conditions de pollinisation, et la forme générale des pépins est une caractéristique importante pour l'identification de l'espèce et de la variété (Chikh, 1987).

Le fruit est une baie de forme et de couleur variable, ovale et brillante à maturité, et sa taille varie également selon l'espèce et les variétés.

D'après Swingle et Reece (1976 in Loussert, 1987), les agrumes sont classés comme suit :

- **Ordre :** Géraniales
- **Famille :** Rutacées
- **Genre :** *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*

### 1.3. Les différentes parties du fruit des agrumes

Les fruits des principales variétés et cultivars d'agrumes varient en couleur, en forme, en taille, en composition de jus et en temps de maturité. Cependant, tous les agrumes cultivés présentent la même anatomie, même si les éléments qui composent cette structure varient selon les espèces et les variétés. La figure 8 présente la composition morphologique des agrumes.

- **Écorce :** La partie non comestible du fruit se compose d'un épicarpe et d'un mésocarpe interne et externe. Lorsque le fruit est mûr, l'épicarpe devient orange ou jaune. Le mésocarpe interne constitue l'albédo, qui est plus ou moins épais, de couleur blanchâtre et de texture spongieuse (Loussert, 1989).
- **Endocarpe :** Il constitue la partie médiane subdivisée en compartiments par de fines membranes. A l'intérieur de la boîte se trouvent des cellules (la pulpe du fruit) remplies d'une solution aqueuse de sucres et d'acides qui représentent 50% du poids du fruit (Colombo, 2004).
- **Les pépins :** Leur nombre est variable, non seulement selon les espèces et les variétés, mais aussi selon les conditions de pollinisation (Loussert, 1989).

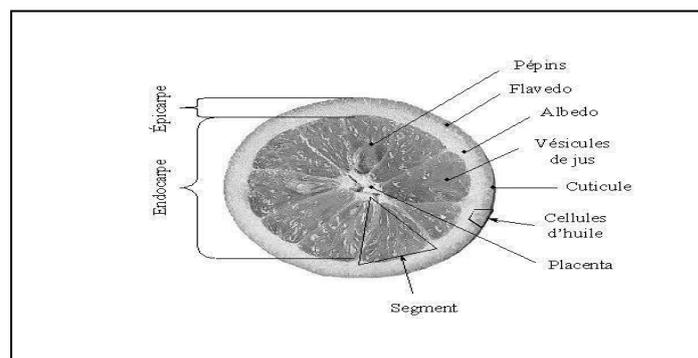


Figure 8 : Caractéristique morphologique d'un agrume (Bekhite, 2013)

### 2. Le genre *Citrus*

Le genre *Citrus* est de loin le genre le plus important économiquement de la sous-famille des Aurantioideae (Rutacées). Le genre *Citrus* seraient originaire d'Asie du Sud-est, notamment de Chine, d'Inde, de la péninsule d'Indochine et de l'archipel adjacent. Malgré des recherches approfondies, la taxonomie des *Citrus* reste un sujet très controversé en raison de l'énorme diversité morphologique observée, de la compatibilité sexuelle entre les espèces et de l'apomixie de nombreux génotypes.

Selon Swingle et Reece (1967), le genre *Citrus* comprend 16 espèces, alors que d'après Tanaka (1961), le genre *Citrus* regroupe 156 espèces comprenant de nombreux hybrides inter et intra spécifiques assimilés à des espèces à parts entières.

### 3. Les principales espèces du genre *Citrus*

- **Les orangers (*Les orangers doux*)** : *Citrus sinensis*, cultivé dans le monde entier pour les fruits. Les feuilles sont ovales à extrémité pointue, fleurs blanches et odorantes (More et al., 2005), fruit subglobuleux à épiderme orange ou rougeâtre, pulpe juteuse, sucrée et acidulée (Valy, 1994).
- **Le Clémentiniers** : *Citrus clementina*, ils mesurent 7 et 10 cm de diamètre. La peau est brillante, orange foncé. La chair est très parfumée et très juteuse. Les clémentines arrivent à maturité en novembre-décembre (Valy, 1994).
- **Les mandariniers** : *Citrus reticulata* sont des petits arbres plus ou moins épineux, à feuilles étroitement à largement lancéolées, leurs fruits globuleux souvent aplatis aux deux pôles, ont une peau fine, non adhérente, de couleur orange ou rouge, leur chair est sucrée, habituellement bien parfumée, et très appréciée. Les pépins se particularisent par la couleur verte des embryons (Valy, 1994).
- **Les Citronniers** : *Citrus limon* sont des arbustes épineux à grandes feuilles ovales vert pâle avec un pétiole simplement marginé. Les fruits ovoïdes, de couleur jaune, ont une pulpe fine, juteuse et acide (Valy, 1994).

## Synthèse bibliographique

- **Les pomélos** : *Citrus paradisi* (Grapefruit) est originaire des Caraïbes. C'est une espèce satellite du *Citrus grandis* dont elle serait issue par mutation gemmaire ou hybridation (Valy, 1994).
- **Les cédratiers** : *Citrus medica*, le cédrat a la même forme que le citron mais il est beaucoup plus gros, sa peau est jaune et très épaisse, sa chair, verte ou jaunâtre, est très amère et peu juteuse. Le cédrat est immangeable tel quel. On mange sa peau confite ou on en fait de la confiture (ITAB, 2005).
- **Les bigaradiers (Orange amer)** : *Citrus aurantium*, les feuilles plus étroitement lancéolées et pointues à pétiole nettement ailé, leurs fruits à peau rugueuse et à pulpe acide et amère qui est le plus souvent utilisé comme porte-greffe (Valy, 1994 ; Letrache, 2012).

Il existe, de nombreuses autres espèces de *Citrus* telles que : les *Citrus unshiu* (les Satsuma cultivés pour leur précocité et d'aspect voisin de celui des mandariniers) ; les *Citrus aurantifolia* limes-limettes-limonettes, espèces proches des citrons mais de fruits généralement plus petits (Loussert, 1989a).

### 4. Description botanique et classification de l'espèce « *Citrus clementina* »

#### 4.1. Description botanique

Le clémentinier (*Citrus clementina*) est un arbre hybride de la famille des Rutacées issu du croisement entre un mandarinier (*Citrus reticulata*) et un oranger (*Citrus sinensis*), de 4 à 6 mètres de hauteur, portant des feuilles et des fleurs très parfumées. La clémentine, fruit du clémentinier est pratiquement sans pépins contrairement à la mandarine, savoureuse dotée d'une peau fine d'une couleur verte qui devient orange sous l'effet de la baisse de températures hivernales. *Citrus clementina* prend de plus en plus la place de *Citrus reticulata*. C'est l'une des espèces les plus douces et sucrées des agrumes (Hamdani, 2018).

#### 4.2. Classification

##### ❖ Classification phylogénétique (APG IV):

Clade : Spermaphytes

Clade : Angiospermes

Clade : Dicotylédones Vrais

Clade : Rosidées

Clade : Malvidées

Clade : Sapindales

Famille : Rutacées

Genre : *Citrus* L.

Espèce : *Citrus clementina* Hort. ex Tanaka



**Photo 1 : Un clémentinier en pleine fructification, 05/12/2021**

### 4.3. Les variétés des clémentines

- **Clémentine Caffin (Jacquemond *et al.*, 2013).**

**Origine :** Mutation naturelle de clémentinier de type commun, découverte au Maroc par Caffin dans son exploitation de la région d'Azemmour (Maroc) en 1968.

**Aire de production :** Corse, Maroc, Tunisie, Italie.

**Arbre :** De forme sphérique, il présente un port étalé et une frondaison dense. La variété Caffin est caractérisée par ses feuilles d'un vert foncé, petites et lancéolées, ainsi que par ses rameaux nombreux et fins à entre-nœuds courts.

**Vigueur :** Faible, surtout les premières années.

**Floraison :** Précoce, étalée et plutôt clairsemée.

**Productivité :** Faible lors des premières années de production, bonne à partir de la 10<sup>e</sup> année au champ (Jacquemond *et al.*, 2013).

- **Clémentine commune 535 (Tomatera) (Jacquemond *et al.*, 2013).**

**Origine :** Mutation naturelle de clémentinier de type commun (Fina), découverte en Espagne (Burrian, région de Castellón de la Plana) dans le verger de Giménez.

**Aire de production :** Corse, Espagne.

**Arbre :** De forme sphérique, il présente un port dressé et une frondaison dense.

**Vigueur :** Forte

**Floraison :** Précoce, étalée.

**Productivité :** Très forte (Jacquemond *et al.*, 2013).

- **Clémentine commune 92 (Fine de Corse, Fina, Algerian, Del terreno)**

**Origine :** En provenance du jardin d'essais de Rabat (Maroc).

**Aire de production :** Corse, Maroc, Espagne, Italie, Turquie, Afrique du Sud, Nouvelle-Zélande, Californie.

**Arbre :** De forme sphérique, il présente un port dressé et une frondaison dense.

**Vigueur :** Forte.

**Floraison :** Précoce, étalée.

**Productivité :** Moyenne à forte (Jacquemond *et al.*, 2013).

- **Clémentine commune 63 (Algerian, Del terreno, Fina)**

**Origine :** Introduite en Corse en 1963, en provenance d'Algérie (Station expérimentale agronomique de Boufarik).

**Aire de production :** Corse, Algérie, Espagne, Maroc, Tunisie, Italie, Turquie, Afrique du Sud

**Arbre :** De forme sphérique, il présente un port dressé et une frondaison dense.

**Vigueur :** Forte.

**Floraison** : Précoce, étalée.

**Productivité** : Moyenne à élevée (Jacquemond *et al.*, 2013).

- **Clémentine Nules (Clemenules, de Nules, Gorda de Nules, Victoria)**

**Origine** : Mutation naturelle de clémentinier de type commun (Fina) découverte en 1953 en Espagne (Nules est une ville dans la région de Castellón de la Plana).

**Aire de production** : Corse, Espagne, Maroc, Afrique du Sud, Argentine, Uruguay, Italie, Grèce, Turquie, Portugal. Bien adaptée dans la plupart des zones productrices de petits agrumes.

**Arbre** : De forme sphérique, il présente un port étalé et une frondaison dense.

**Vigueur** : Moyenne à élevée.

**Floraison** : Tardive, très étalée.

**Productivité** : Moyenne à forte (Jacquemond *et al.*, 2013).

### 5. Travaux antérieurs :

#### 5.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus clementina*

L'huile essentielle de *Citrus clementina* a fait l'objet de plusieurs études (**Tableau 4**). Selon la littérature, cette huile essentielle est riche en monoterpènes (limonène, myrcène,  $\alpha$ -pinène, sabinène), en sesquiterpène ( $\alpha$ -sinensal), en alcool terpénique (linalol) et en aldéhyde (décanal, octane). Une composition avec le limonène très majoritaire (92 - 97%) a déjà été décrite auparavant dans des échantillons de plusieurs variétés de clémentine provenant de plusieurs pays : Uruguay (**Verzera *et al.*, 1998**), Italie (**Mondello *et al.*, 1995 ; Verzera *et al.*, 1997**), Algérie (**Baaliouamer *et al.*, 1992**) et dans des cultivars non spécifiés d'origine non précisée (**Calvarano *et al.*, 1974 ; Huet, 1991 ; Ruberto *et al.*, 1993, 1994, 1997 ; Gazea *et al.*, 1998**).

En effet, les huiles essentielles du zeste de *Citrus clementina* sont presque exclusivement composées d'hydrocarbures, le limonène étant le composant principal. **Ruberto *et al.*, 2012** rapportent une composition d'un échantillon provenant de Sicile, dominé par le limonène suivi de linalol. Le composé majoritaire dans trois échantillons provenant d'Espagne, décrits par **Bermejo *et al.* (2011)** est le limonène suivi par le myrcène et le linalol. Une autre analyse propose aussi le limonène très majoritaire suivi de myrcène dans un échantillon des fruits de clémentine récoltés en Egypte (**El-hawary *et al.*, 2013**). Un autre échantillon originaire du Vietnam contient également le limonène comme constituant majoritaire, associé au myrcène et à l' $\alpha$ -pinène (**Nguyen *et al.*, 2016**). Une autre étude faite par **Boudries *et al.* (2016)** rapporte une composition à limonène très majoritaire suivi de  $\beta$ -myrcène et de sabinène dans un échantillon provenant d'Algérie. Précédemment, **Lota *et al.* (2001)** ont déterminé la composition chimique de 16 échantillons provenant de plusieurs variétés de *Citrus clementina* récoltés en Corse. Ils rapportent que le limonène est le principal constituant, suivi de myrcène et de linalol.

## Synthèse bibliographique

**Tableau 4 : Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle du zeste de clémentine selon la littérature**

Partie utilisée	Composés majoritaires (%)	Type d'extraction	Rendement	Lieux de récolte	Références bibliographiques
Zeste	Limonène (95,46%), Sabinène (1,82%), Linalol (0,53%), $\alpha$ -Pinène (0,43%), Décanal (0,27%), Myrcène (0,15%), Octanal (0,13%)	Entraînement à la vapeur		Italie (Sicile)	<b>Ruberto <i>et al.</i>, 1997</b>
Zeste (16 échantillons)	Limonène (89,1 - 95,5%), Sabinène (0,3 - 4,0%), Myrcène (1,4 - 2,0%), Linalol (0,6 - 1,9%), $\alpha$ -Sinensal (0,1 - 0,7%), $\alpha$ -Pinène (0,3 - 0,6%), Décanal (0,1 - 0,5%), Octanal (0,1 - 0,3%), $\beta$ -Phellandrène (0,2 - 0,3%)	Expression à froid	0,05 - 0,06%	France (Corse)	<b>Lota <i>et al.</i>, 2001</b>
Zeste (7 échantillons)	Limonène (91,97-95,13%), Sabinène (0,52-2,22%), Myrcène (1,84-1,93%), Linalol (0,49-1,18%), $\alpha$ -Pinène (0,44-0,56%), $\alpha$ -Terpinéol (0,31-0,56%), $\alpha$ -Sinensal (0,09-0,27%), <i>Trans</i> -Ocimène (0,03-0,16%)	Expression à froid		Espagne (Valencia)	<b>Merle <i>et al.</i>, 2004</b>
Zeste (2 échantillons)	- Limonène (88,12%), Myrcène (4,64), $\alpha$ -Pinène (1,27%), Linalol (1,02%), Sabinène (0,83%), Décanal (0,71%), Octanal (0,44%), $\alpha$ -Sinensal (0,3%)  - Limonène (89,29%), Myrcène (3,77%), Linalol (1,24%), Sabinène (0,98%), $\alpha$ -Pinène (0,91%), Décanal (0,72%), $\alpha$ -Sinensal (0,55%), Octanal (0,28%)	Extraction expression à froid  Extraction par CO <sub>2</sub> supercritique	0,26%  0,26%	Turquie(Antalya)	<b>Kirbaşlar <i>et al.</i>, 2012</b>

## Synthèse bibliographique

Zeste	Limonène (96,8%), $\beta$ -Myrcène (2,1%), Sabinène (0,6%), Linalol (0,3%), $\alpha$ -Pinène (0,1%)	Hydrodistillation	0,52%	Algérie (Bejaïa)	<b>Boudries <i>et al.</i>, 2016</b>
Zeste (3 échantillons)	Limonène (63,31 - 83,09%), Myrcène (3,56 - 9,1%), Linalol (3,29 - 6,64%), Nonanal (1,62 - 3,64%), Sabinène (0,97 - 2,55%), Décanal (1,04 - 2,2%), $\alpha$ -Pinène (1,10 - 1,13%), $\alpha$ -Sinensal (0,37 - 0,7%)	Hydrodistillation	0,54 - 0,8%	Italie	<b>Leporini <i>et al.</i>, 2020</b>

### 5.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de *Citrus clementina*

Plusieurs données de la littérature rapportent les effets bénéfiques des fruits de *C. clementina* sur la santé. En effet, ils possèdent plusieurs activités biologiques : antioxydante, hypoglycémiant, hypolipidémique, antiproliférative, neuroprotectrice et antimicrobienne, liées à la présence de composés bioactifs dont la vitamine C, les caroténoïdes, les composés phénoliques et les huiles essentielles (Camarda *et al.*, 2007 ; Sdiri *et al.*, 2012 ; Russo *et al.*, 2012 ; Tundis *et al.*, 2016 ; Boudries *et al.*, 2017 ; Bonesi *et al.*, 2017 ; Leporini *et al.*, 2020).

Par ailleurs, très peu de travaux ont été réalisés sur les activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. clementina*.

En 2020, Naima a réalisée une étude sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *C. clementina*. Les résultats obtenus montrent que les antioxydants de référence tels que le BHT (CI<sub>50</sub> = 0,0079 mg/ml) et le BHA (CI<sub>50</sub> = 0,0065 mg/ml) sont 400 à 450 fois plus actifs que l'huile essentielle de *C. clementina* (CI<sub>50</sub> = 3,15 mg/ml).

Leporini *et al.* (2020) ont étudié l'activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de clémentine provenant de trois stations d'Italie. Le pouvoir antioxydant des échantillons a été déterminé par quatre tests, à savoir : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•), le blanchiment du β-carotène, piégeage du radical-cation ABTS et le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP). Les résultats obtenus révèlent un très faible pouvoir antioxydant par rapport aux standards testés. Cependant, les résultats du test FRAP ont montré que les trois échantillons de l'huile essentielle de clémentine sont très actifs, avec une CI<sub>50</sub> variant entre 6,3 et 25,38 μM/g par rapport au contrôle positif (BHT, CI<sub>50</sub> = 82,43 μM/g).

L'activité antioxydante de l'huile essentielle du zeste de clémentine a été également évaluée par Hamdani en 2018. Elle rapporte aussi de très faibles activités par rapport aux composés de référence testés. En effet, le pourcentage d'inhibition obtenu par le test de DPPH• est de l'ordre de 51,3% à une concentration de 1000 mg/ml contre 56,52% pour BHT à une concentration de 3 mg/ml et 74,91% à une concentration de 0,2 mg/ml pour l'acide ascorbique. La concentration d'huile essentielle de *C. clementina* nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH est de 955,36 mg/ml qui est largement supérieure aux deux témoins positifs (BHT : 2,31 mg/ml ; AA : 0,13 mg/ml).

Par ailleurs, Boudries *et al.* en 2016 ont étudié les activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle du zeste de *C. clementina*. De même, ces auteurs rapportent également une très faible activité antioxydante déterminée par deux tests : le piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP). Par ailleurs, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du zeste de *C. clementina* a été testée vis-à-vis de cinq souches bactériennes : *Listeria*

*inocua*, *E. coli*, 2 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et une levure : *Candida albicans*. Seul *Candida albicans* s'est révélé sensible, avec une zone d'inhibition de 27,63 mm et une CMI de l'ordre de 5 µl/ml.

**Baygar et Saraç (2018)** ont réalisé une étude sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du zeste de *C. clementina*. Les résultats de la méthode de diffusion sur disque, indiquent que *Candida albicans* était le microorganisme le plus sensible avec une zone d'inhibition la plus élevée 20,67 mm. En revanche, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* se sont révélés plus résistants avec des zones d'inhibition variant entre 12,67 et 14,67 mm. Dans cette même étude, la cytotoxicité de l'huile essentielle a été également évaluée sur une lignée cellulaire de fibroblastes humains non cancéreuse (NIH-3T3). Les résultats ont montré que l'huile essentielle présente une cytotoxicité avec une CI<sub>50</sub> de l'ordre de 52,50 µg/ml.

### 6. Huile essentielle des agrumes

Les agrumes ne figurent pas seulement en bonne place dans la production, les fruits sont également une riche source de matières premières parfumées. Les huiles essentielles sont principalement utilisées pour massage, mais ils prennent aussi des inhalations ou des bains. En général, ils ne doivent pas être pris en interne (par voie orale) car ils peuvent être toxiques.

En chimie alimentaire, elles ont de multiples applications: boissons, conserves, confiseries, glaces, produits laitiers et les industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles) comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux (**Bosson, 2004 ; Bruneton, 2009**). Le limonène est une molécule à l'origine à la fois de l'odeur du citron et de l'orange. Le limonène comme étant le composé le plus abondant dans les huiles essentielles des agrumes, au-delà de son odeur fruitée, il est réputé pour ses propriétés antiseptique, antivirale et sédative et est employé pour divers usages :

- La formulation de solvants industriels (industries chimiques) ;
- Utilisation comme solvant biologique et dans de nombreux produits de nettoyage tels que les dégraissants, les agents de démoulage et les solutions de trempage ;
- Solvant pour les produits d'esthétique ;
- Agent de saveur dans les aliments et les boissons non-alcoolisées ;
- Arôme dans les savons, les parfums et les produits d'entretien ménager.
- Production du plastique biodégradable ;
- Préparations pharmaceutiques.

Le limonène est connu également pour ses propriétés thérapeutiques. En effet, il peut entraîner un ralentissement du développement des cellules cancéreuses responsable du cancer du

sein (Mailhebiau, 1994 ; Hard *et al.*, 1994). Le limonène stimule la digestion, a également une activité cholérétique et cholagogue et favorise l'expulsion des gaz intestinaux. La voie orale et cutanée sont à éviter en raison de la photosensibilisation au soleil ; alors que la diffusion atmosphérique est recommandée (Organization, 1993).

L'huile essentielle de *Citrus clementina* est également connue pour calmer les tensions et booster le sommeil. Elle est riche en puissants monoterpènes doués de propriétés anti-infectieuses contre les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Elle est aussi idéale pour la digestion difficile, l'insomnie et le stress et favorise également l'élimination des graisses.

### **7. Utilisation et effets thérapeutiques des fruits de genre *Citrus***

Beaucoup d'études ont montré que les plantes du genre *Citrus* sont riches en principes actifs tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes qui sont utilisés à des fins thérapeutiques ou bien dans les secteurs cosmétiques ou alimentaires (Hama et Saloune, 2017). En effet, l'amertume et l'arôme de la pulpe d'orange amère peuvent stimuler l'appétit et favoriser la digestion (Touscher *et al.* 2005 ; Santo *et al.*, 2011). La pulpe d'orange fraîche est utilisée pour traiter les maladies de la peau : acné, soins de la peau et du visage (Valnet, 2001). Le citron a été utilisé pour traiter l'insomnie, l'asthme et dissoudre les cristaux rénaux (Okwu et Emenik, 2006). Il diminue la tension artérielle, réduit le risque d'accident vasculaire cérébral, traite l'obésité (Ramful *et al.*, 2011) et élimine aussi la mucosité (Ye, 2011). Les agrumes ont également des propriétés antiallergiques en raison de leur abondance en quercétine, hespéridine et en diosmine qui sont des inhibiteurs de l'histamine, un neurotransmetteur impliqué dans les réponses allergiques et inflammatoires (González- Molina *et al.*, 2010).

Enfin, ils présentent plusieurs activités biologiques, telles que : activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antioxydante, anticancéreuse (Del-rio *et al.*, 2004 ; Tripoli *et al.*, 2007).

## Partie expérimentale

### 1. Matière végétale

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

La cueillette des fruits de clémentines a été effectuée dans deux stations : El Fehoul et cité des oliviers, situées dans la wilaya de Tlemcen (**Figure 9**).

L'identification de cette plante a été réalisée par le Dr F. Hassani (Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes, université de Tlemcen).

#### 1.1. Situation géographique des stations d'étude

La wilaya de Tlemcen se situe au Nord-ouest du pays à la frontière Algéro-marocaine et occupant l'oranie occidentale. Elle s'étend sur une superficie de 9 017.69 Km<sup>2</sup>, située à environ 800 m d'altitude limitée par les coordonnées (longitude, altitude) suivantes :

- Longitude : 1°16'12'' et 1°22'58'' Ouest
- Altitude : 34°47'52'' et 34°52'58'' Nord

La wilaya de Tlemcen est limitée géographiquement par :

- Au Nord, par la mer méditerranée ;
- A l'Est, par la wilaya de Sidi Bel-Abbés ;
- A l'Ouest, par le Maroc
- Au Sud, par la wilaya de Naâma

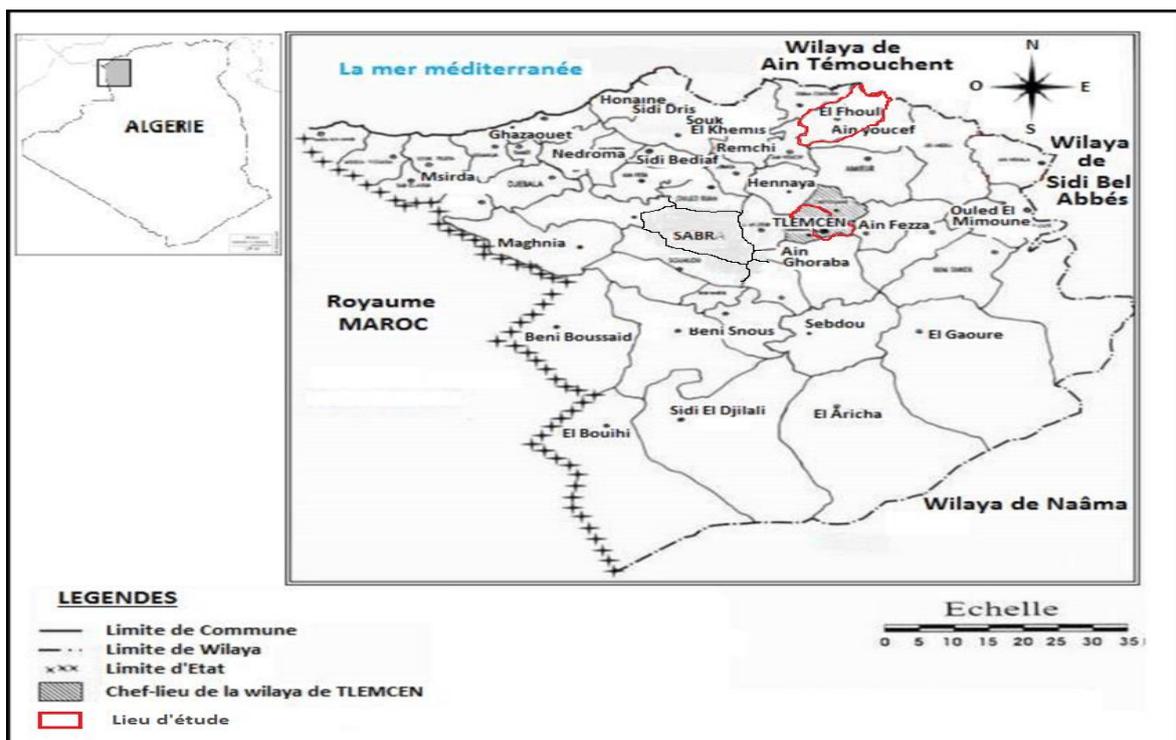


Figure 9 : Situation géographique des lieux de prélèvement dans la région de Tlemcen

## Partie expérimentale

### 1.2. La récolte de la Matière végétale

#### 1.2.1. La station « El Fehoul »

La récolte des fruits a été réalisée dans la station d'El Fehoul (**Figure 9**) le 06 novembre 2021, sur 10 pieds individuels.



**Photo 2 : Photo d'un arbre de clémentinier et situation géographique du lieu de récolte (El Fehoul, 05/11/20121)**

#### 1.2.2. La station « cité des oliviers »

La récolte des fruits a été réalisée dans la station « cité des oliviers » (**Figure 10**) le 14 décembre 2021, sur 10 pieds individuels.



**Photo 3 : Photo d'un arbre de clémentinier et situation géographique du lieu de récolte (Cité des Oliviers, 13/12/2021)**

## Partie expérimentale

### 2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle de l'écorce des fruits (épicarpe et mésocarpe) de *Citrus clementina* a été effectuée par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger (**Photo 4**), pendant une durée de 2 heures ou le matériel végétal est en contact direct avec le solvant.

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

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



**Photo 4 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger**

### 3. Calcul des rendements en huile essentielle

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

$$\text{Rdt \%} = \frac{M}{M_0} \times 100$$

- **Rdt%** : Rendement en huile essentielle
- **M** : Masse d'huile essentielle récupéré (g)

- $M_0$  : Masse de la matière végétale à traiter (g)

#### 4. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de la clémentine

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

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

Dans cette partie, nous avons étudié le pouvoir antioxydant et antifongique de l'huile essentielle de *Citrus clementina*. Ainsi, pour avoir une quantité suffisante afin de pouvoir réaliser les activités biologiques, nous avons mélangé les huiles essentielles des différents échantillons.

##### 4.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Citrus clementina*

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

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

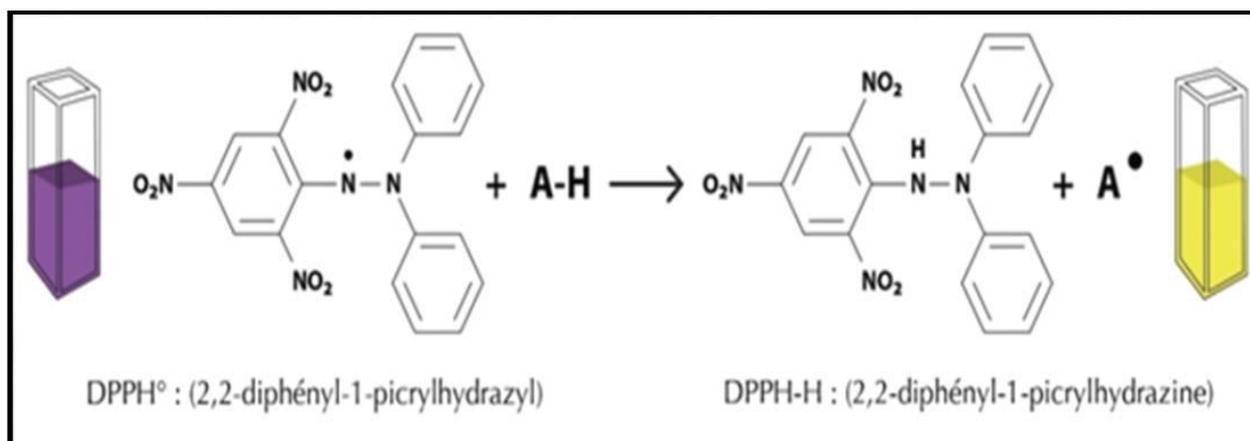
L'activité antioxydante des plantes médicinales est évaluée par plusieurs méthodes : soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes), par des techniques photométriques ou par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres.

Dans cette partie, nous avons utilisé la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) pour la détermination du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Citrus clementina*, en utilisant l'éthanol comme solvant.

## Partie expérimentale

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

Ce dosage spectrophotométrique est basé sur la mesure de la capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) de couleur violette foncée en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune facilement mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (**Figure 10**). Cette réduction est due à l'aptitude des composés antioxydants à céder des protons ou des électrons (**Bandoniene et al, 2002 ; Pavlov et al. 2002 ; Gazi et al., 2004**).



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

Le protocole utilisé repose sur la méthode expérimentale rapportée par **Kouame et al.** en (**2017**). 2,5 ml de diverses concentrations (256, 128, 64, 32, 16, 8 mg/ml) de l'huile essentielle préparée dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés à 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH° à 0,03 mg/ml. Pour chaque concentration, un blanc a été préparé. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 2,5 ml d'éthanol absolu avec 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH°. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'activité de l'huile essentielle a été comparée à l'acide ascorbique en tant que contrôle positif.

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

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

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

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

### 4.2. Activité Antifongique de l'huile essentielle de *Citrus clementina*

La résistance multi-médicamenteuse est un problème de santé publique à l'échelle planétaire. En effet, beaucoup d'infections microbiennes telles que la tuberculose, le paludisme ou encore les maladies nosocomiales, sont devenues très résistantes aux antibiotiques. Il est donc urgent de trouver de nouvelles cibles pour de nouveaux antimicrobiens.

La détermination du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Citrus clementina* est réalisée vis-à-vis de trois champignons filamenteux en appliquant la méthode de diffusion sur disque et la méthode de contact direct en milieu gélosé.

#### 4.2.1. Provenance des germes

Les souches pathogènes (**Tableau 5**) utilisées ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires, leurs résistances courantes à différents antifongiques et pour leur pathogénicité.

**Tableau 5 : Origines des souches fongiques utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles**

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

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris)

#### 4.2.2. Mise en culture des souches

Une préculture des souches microbiennes est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. Les suspensions de spores de moisissures, (préparées à partir d'une culture de 7 jours ayant atteint le stade de sporulation sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) sont ajustées à  $10^6$  spores/ml, ce qui correspond à une transmittance de 68-82% ( $\lambda = 530$  nm) (Pfaller *et al.*, 1998).

#### 4.2.3. Méthodes d'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles

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

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

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

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

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

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

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

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

### **4.2.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé**

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

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

### 1. Extraction des huiles essentielles et calcul des rendements

L'extraction des huiles essentielles à partir de l'écorce de *C. clementina* a été effectuée par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. L'aspect des huiles essentielles est liquide et de couleur jaune clair.

Les rendements en huile essentielle sont calculés par rapport à la quantité de la matière végétale fraîche et sont représentés dans les graphes 11 et 12.

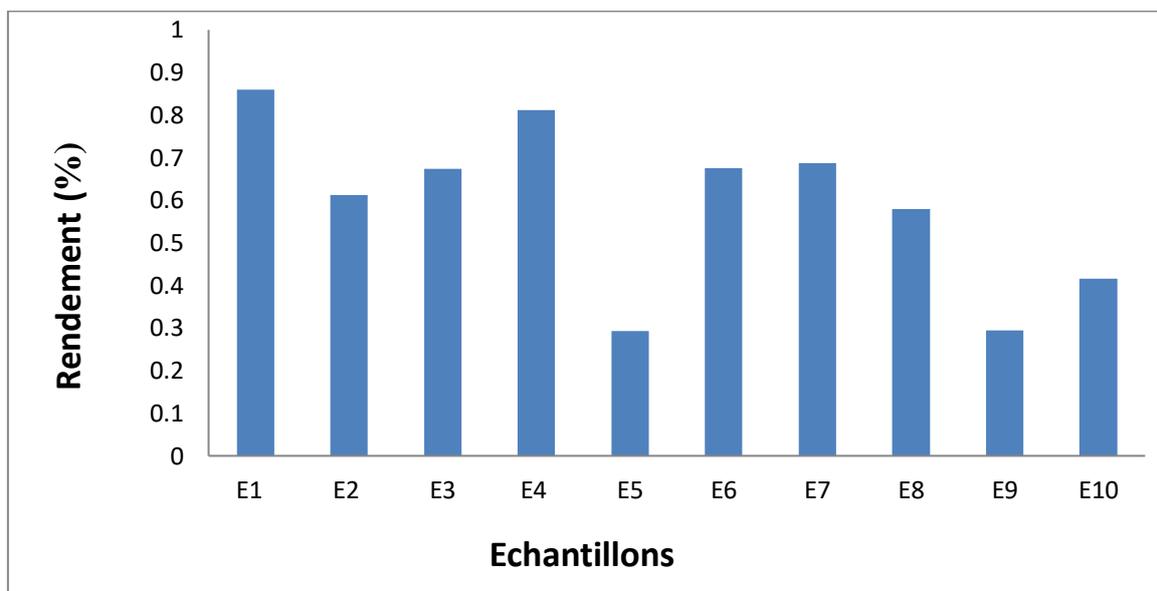


Figure 11 : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* récolté dans la station d'EL Fehoul

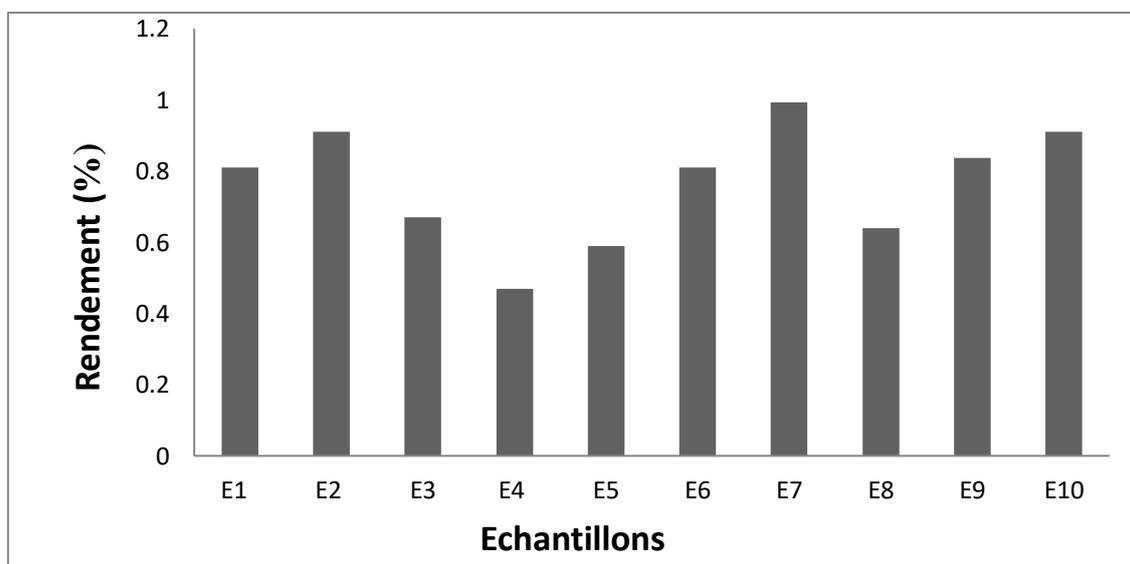


Figure 12 : Rendements (en%) en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* récolté dans la station de la cité des oliviers

Selon les graphes 11 et 12, nous avons remarqué que le zeste des clémentines est riche en huile essentielle. Les rendements sont très variables. Cette variabilité existe entre les

## Résultats et discussion

échantillons récoltés dans la même station d'étude. Les teneurs varient entre 0,29 et 0,86% dans la station d'El Fehoul et entre 0,47 et 0,99% dans la station de la cité des oliviers. Par ailleurs, nous avons constaté également que la différence des moyennes des rendements entre les deux stations d'étude est importante (0,59% contre 0,76% ; respectivement) (**Figure 13 et 14**). Cependant, les échantillons de la deuxième station sont plus riches en huile essentielle. Cette variabilité est due probablement aux caractéristiques pédologiques.

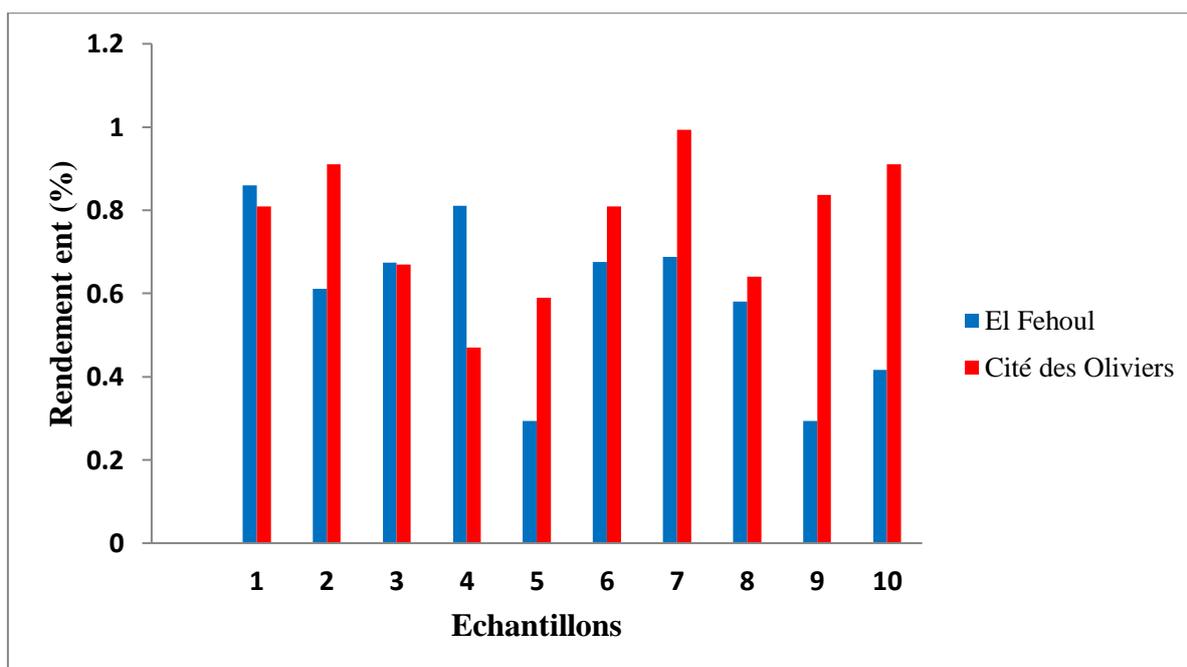


Figure 13 : Comparaison des rendements (en%) en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* récolté dans les deux stations

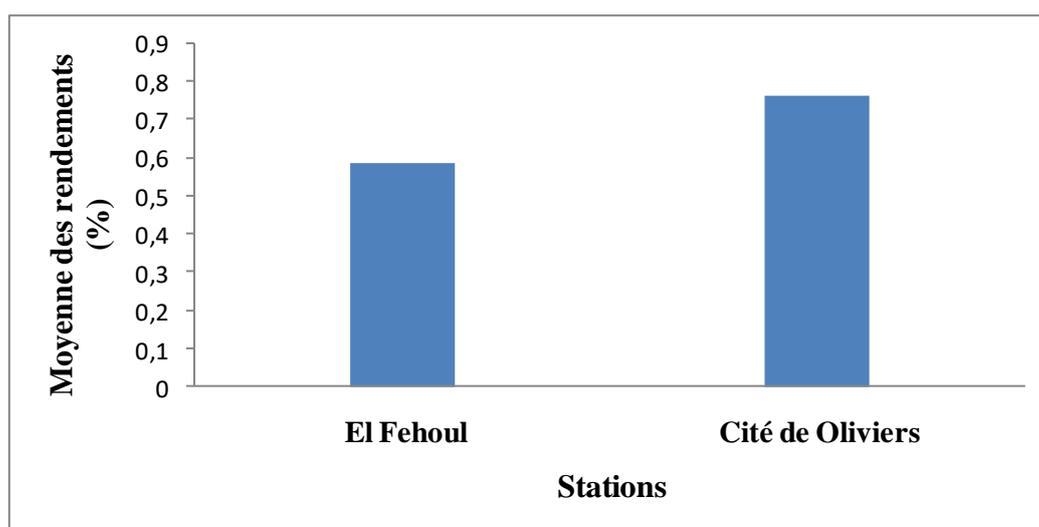


Figure 14 : Moyenne des rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* récolté dans les deux stations

## Résultats et discussion

Cette variabilité des rendements en huile essentielle du zeste de *C. Clementina* obtenue (0,29 et 0,99%), concorde avec les données de la littérature. En effet, certains travaux rapportent des rendements en huile essentielle comparables aux nôtres, de l'ordre de 0,52% (Boudries *et al.*, 2016) et variant entre 0,54 et 0,80% (Leporini *et al.*, 2020). En revanche, un faible rendement (0,26%) a été rapporté par Kirbaşlar *et al.* en 2012.

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

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

#### 2.1. Etude de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* des deux échantillons a été testé en utilisant la méthode du piégeage du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH<sup>\*</sup>) et en utilisant l'éthanol comme solvant. Les résultats du pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle des échantillons (E1 et E2) sont reportés sur les figures 15 et 16, respectivement.

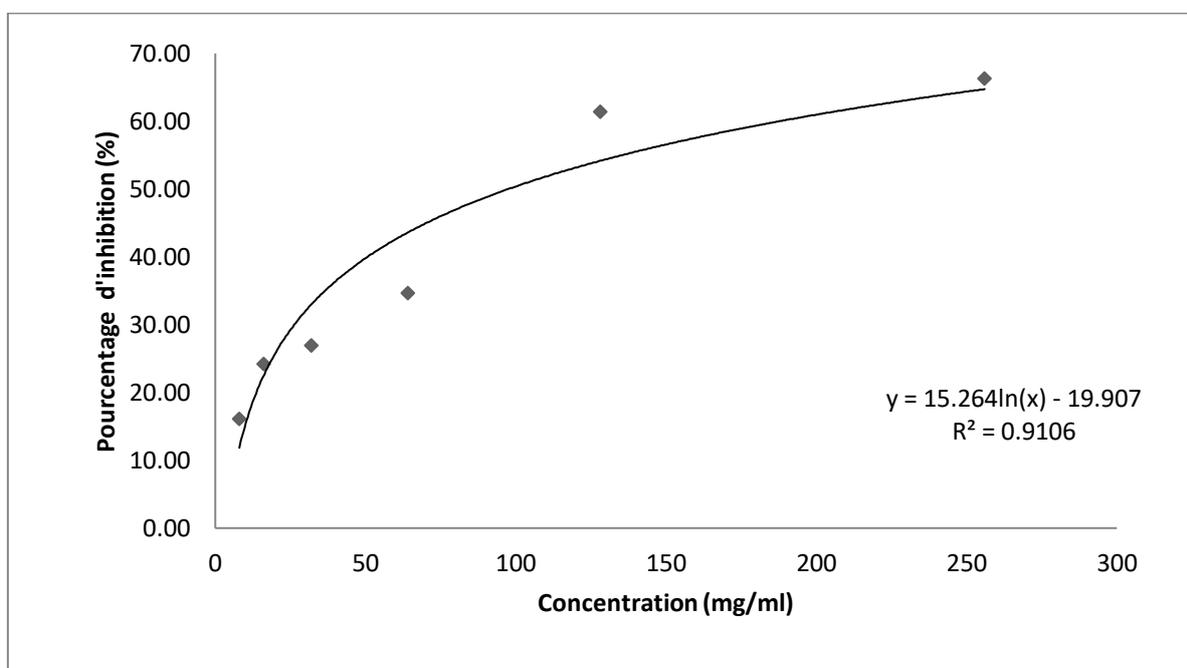
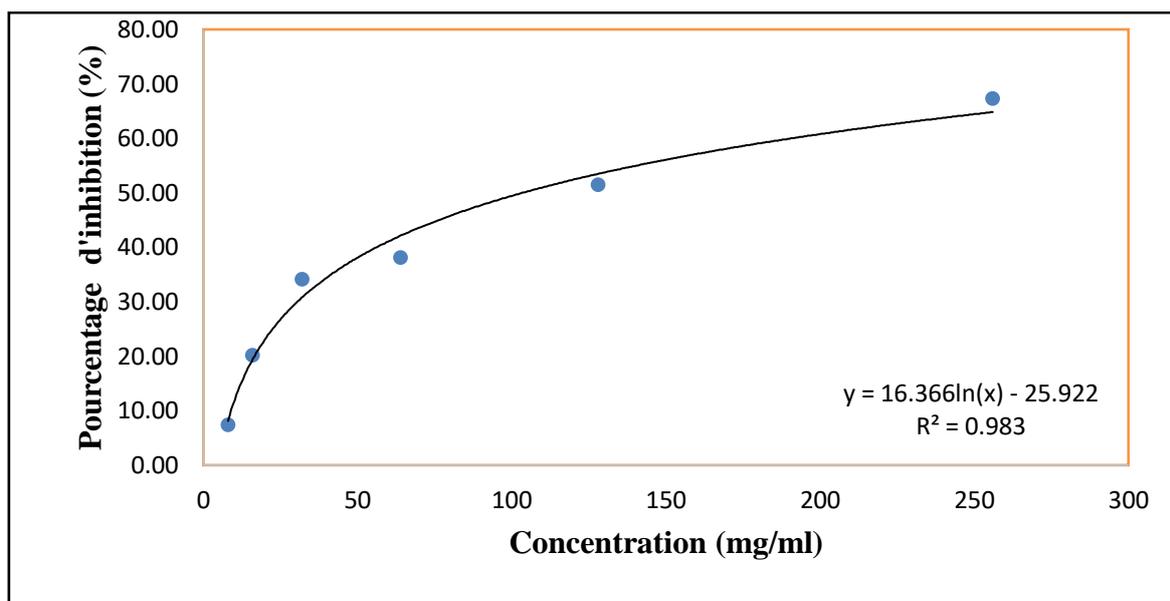


Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* (E1)



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

Les huiles essentielles des deux échantillons (E1 et E2) ont montré une activité antioxydante modérée vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH avec une valeur de l'ordre de 66,3% et 67,3%, respectivement à une concentration de 256 mg/ml.

En revanche, l'huile essentielle de l'échantillon E2 a montré un pouvoir antioxydant plus important. En effet, à la même concentration de l'ordre de 128 mg/ml, nous avons obtenu un pourcentage d'inhibition plus bas de l'ordre de 51,5% contre 61,4% pour l'échantillon E2.

Par comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature, nous avons constaté que nos échantillons présentent une activité antioxydante plus importante. En effet, **Hamdani en 2018** rapporte un très faible pouvoir antioxydant par rapport aux composés de référence testés. Ainsi, le pourcentage d'inhibition obtenu par le test de DPPH\* est de l'ordre de 51,3% à une concentration de 1000 mg/ml contre 56,52% pour BHT à une concentration de 3 mg/ml et 74,91% à une concentration de 0,2 mg/ml pour l'acide ascorbique.

Les valeurs des  $CI_{50}$ , présentées dans le tableau 6, nous permettent de comparer l'efficacité des huiles essentielles. Nous rappelons que plus la valeur de la  $CI_{50}$  est faible plus l'huile essentielle possède un potentiel pour le piégeage des radicaux libres.

## Résultats et discussion

**Tableau 6 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle du zeste de *C. Clementina* des deux échantillons exprimée en CI<sub>50</sub>**

Echantillons	CI <sub>50</sub> (mg/ml)
E1	97,49 ± 5,15
E2	103,44 ± 3,16
Acide ascorbique	0,02 ± 0,001

Ces résultats confirment ceux obtenus pour les pourcentages d'inhibition. Ainsi, les deux échantillons sont moins actifs, avec une CI<sub>50</sub> de l'ordre de 97,49 ± 5,15 et 103,44 ± 3,16 mg/ml, qui reste nettement moins actif par rapport au composé de référence à savoir, l'acide ascorbique.

Cependant, nos échantillons sont plus actifs que ceux rapportés dans la littérature. En effet, **Hamdani** en **2018** rapporte une CI<sub>50</sub> de l'ordre de 955,36 mg/ml qui est largement supérieure aux deux témoins positifs testés (BHT : 2,31 mg/ml ; AA : 0,13 mg/ml).

De même, **Leporini et al** en **2020**, avancent des CI<sub>50</sub> obtenues par le test DPPH, très élevées, variant 308,55 ± 6,12 et 370,3 ± 6,74 µg/ml, plus importantes que celle du standard utilisé (5,0 ± 0,8 µg/ml). En revanche, les résultats du test FRAP ont montré que les trois échantillons de l'huile essentielle de clémentine sont très actifs, avec une CI<sub>50</sub> variant entre 6,3 et 25,38 µM/g par rapport au contrôle positif (BHT, CI<sub>50</sub> = 82,43 µM/g).

### 2.2. Etude de l'activité antifongique

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

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

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle du zeste des deux échantillons de *C. clementina* sont représentés dans le tableau 7.

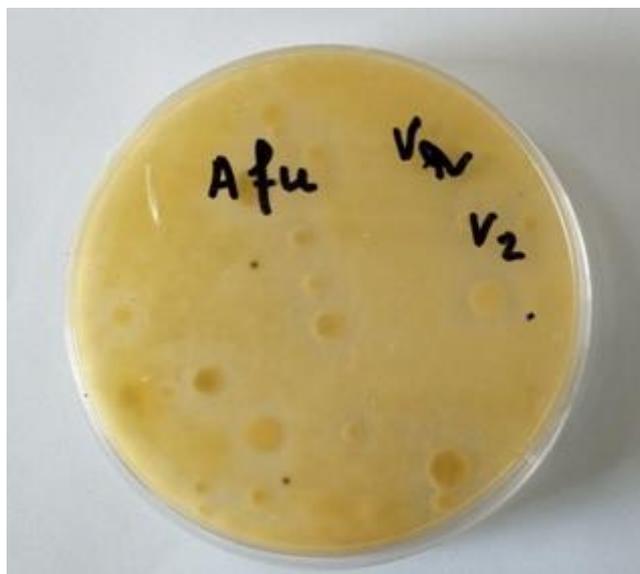
**Tableau 7 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (E1 et E2) de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* relatives aux souches fongiques selon la méthode de disque**

Souches fongiques	Contrôles positifs		Huile essentielle (15 µl/disque)		Contrôle négatif DMSO (20 µl/disque)
	FLU (25 µg/disque)	AMB (20 U/disque)	Echantillon E1	Echantillon E2	
<i>Aspergillus flavus</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	10,3 ± 0,6	6,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	6,0 ± 0,0	10,7 ± 1,2	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0

FLU : Fluconazole AMB : Amphotéricine B

## Résultats et discussion

Selon le tableau 7, les deux échantillons de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* testés, ne possèdent aucune activité antifongique avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 6,0 mm vis-à-vis de la majorité des souches fongiques. Cependant, nous avons noté une faible activité de l'échantillon E2 vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus* avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 10,3 mm (Photo 5).



**Photo 5 : Inhibition faible d'*Aspergillus fumigatus* par l'huile essentielle de l'échantillon E2**

Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux rapportés par **Boudries et al** en **2016** qui ont déterminé l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du zeste de *C. clementina* vis-à-vis de cinq souches bactériennes : *Listeria innocua*, *E. coli*, 2 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et une levure : *Candida albicans*. En effet, ils avancent une activité modérée, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 12,6 et 14,0 mm. Ils rapportent également que seul *Candida albicans* s'est révélé sensible, avec une zone d'inhibition de l'ordre de 27,6 mm. De même, **Baygar et Saraç (2018)** ont réalisé une étude sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du zeste de *C. clementina*. Les résultats de la méthode de diffusion sur disque indiquent que *Candida albicans* était le microorganisme le plus sensible avec une zone d'inhibition la plus élevée, de l'ordre de 20,67 mm. En revanche, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* se sont révélés plus résistants avec des zones d'inhibition variant entre 12,67 et 14,67 mm.

## Résultats et discussion

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

L'évaluation d'un agent antimicrobien est généralement effectuée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits testés. La CMI correspond à la plus faible concentration en agent actif capable d'inhiber totalement la croissance d'un micro-organisme donné. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 8.

**Tableau 8 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* relatives aux souches fongiques testées**

Champignons filamenteux	Echantillon E1 (µl/ml)	Echantillon E2 (µl/ml)
<i>Fusarium oxysporum</i>	> 6	> 6
<i>Aspergillus flavus</i>	> 6	> 6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	> 6	6

Selon le tableau 8, l'huile essentielle du zeste de *C. clementina* possède une très faible activité antimicrobienne vis-à-vis des souches fongiques testées. Seul *Aspergillus fumigatus* s'est révélé sensible à l'échantillon E2 mais avec une CMI élevée de l'ordre de 6 µl/ml (Photo 6).



**Photo 6 : Inhibition totale d'*Aspergillus fumigatus* par l'huile essentielle de l'échantillon E2 à la concentration 6 µl/ml**

Ces résultats révèlent une activité légèrement moins importante que celle décrite dans la littérature. En effet, les travaux de **Boudries *et al.* (2016)**, décrivent une CMI vis-à-vis de *candida albicans* de l'ordre de 5 µl/ml.

## Conclusion

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des milliers d'années pour prévenir les maladies humaines et surtout les épidémies et cela grâce à la présence d'une ressource non négligeable de molécules bioactives. La connaissance de leurs propriétés curatives s'est transmise au fil des siècles et aujourd'hui, elles sont utilisées dans le monde à diverses fins.

L'Algérie abrite de nombreuses plantes médicinales. Ainsi, nous nous sommes intéressés d'une part, à l'étude des rendements en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* récolté sur des pieds individuels dans deux stations dans la région de Tlemcen, et d'autre part, aux propriétés biologiques (antioxydante, antifongique) de l'huile essentielle de cette espèce végétale.

Nous avons prélevé 20 échantillons : 10 échantillons dans la station d'El Fehoul et 10 échantillons dans la station de la cité des oliviers, sur des arbres individuels.

Dans la première étape, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. L'épicarpe des clémentines est riche en huile essentielle, avec des rendements très variables, allant de 0,29 à 0,99%. Cependant, la moyenne des rendements dans la station d'El Fehoul (0,59%) est moins importante en comparaison avec celle de la station de la cité des oliviers (0,76%).

Ensuite, nous avons regroupé l'huile essentielle des échantillons de la même station pour avoir suffisamment d'huile essentielle et pouvoir effectuer les activités biologiques. Ainsi, nous avons constitué deux échantillons « communelle » (E1 et E2).

Dans un second temps, nous avons évalué les activités biologiques de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* des deux échantillons « communelle » (la capacité antioxydante par le test de DPPH• et l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque et par la méthode du contact direct). Les deux échantillons testés possèdent un faible pouvoir antioxydant par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique ( $CI_{50} : 103,44 \pm 3,16$  et  $97,49 \pm 5,15$  mg/ml, contre  $0,02 \pm 0,001$  mg/ml). Enfin, l'activité antifongique de l'huile essentielle des deux échantillons a été testée vis-à-vis de trois souches fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*). Le pouvoir antifongique de l'huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* est faible voire nulle. Cependant, *Aspergillus fumigatus* s'est montré le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon E2 avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 10,3 mm et une CMI élevée de l'ordre de 6 µl/ml. Cependant, cette sensibilité reste faible.

Toutefois, il serait intéressant aussi de compléter cette étude par :

- La caractérisation chimique de l'huile essentielle du zeste des différents échantillons ;

## *Conclusion*

- L'analyse statistique de la composition des différents échantillons afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique ;
- L'évaluation d'autres activités biologiques : anti-inflammatoires ... ;

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

## Références bibliographiques

- **Anonyme1:** <https://www.fruitrop.com/Articles-par-theme/Statistiques/2020/Recueil-Statistique-Agrumes-2019-2020>
- **Anonyme 2 :** <https://fr.statista.com/statistiques/990991/production-totale-d-agrumes-par-type-algerie/>
- **Baaliouamer, A., Meklati, B.Y., Fraisse, D., Schar., C. (1992).** The chemical composition of some cold pressed *Citrus* oils produced in Algeria. *J. Essent. Oil Res.*, 4, 251-258.
- **Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R., Gruzdiene, D. (2000).** Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, 33(9), 785-791.
- **Baygar, T., Sarac, N., (2018).** Antimicrobial Activity Of Clementine Peel Essential Oil With Its Cytotoxic And In Vitro Wound Healing Potential On Nih-3t3 Fibroblast Cells”, *Mugla. Journal of Science and Technology*, 4(2), 143-147.
- **Bekhite, N.H. (2013).** L'utilisation des Epluchures d'Oranges pour tenter de Réduire des Cétones et Aldéhydes en alcools. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaïd, 58p.
- **Bermejo, A., Llosa, M.J., Cano, A. (2011).** Analysis of bioactive compounds in seven *Citrus* cultivars. *Food Sci. Tech. Int.*, 17, 55-62.
- **Biche, M. (2012).** Les principaux insectes ravageurs des agrumes en Algérie et ennemis naturels. Ed. Institut national de la protection des végétaux et le ministère de l'agriculture et du développement durable et FAO, 36p.
- **Bonesi, M., Loizzo, M.R., Leporini, M., Tenuta, M.C., Passalacqua, N.G., Tundis, R. (2017).** Comparative evaluation of petit grain oils from six *Citrus* species alone and in combination as potential functional anti-radicals and antioxidant agents. *Plant Biosyst.* 152, 986-993.
- **Boudries, H., Loupassaki, S., Ladjal Ettoumi, Y., Souagui, S., Bachir Bey, M., Nabet, N., Chikhoun, A., Madani, K., Chibane, M. (2017).** Chemical profile, antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus reticulata* and *Citrus clementina* (L.) essential oils. *Food Res. Int. J.*, 24, 1782-1792.
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Editions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1288p.
- **Calvarano, I., Bovalo, F., Di Giacomo, A. (1974).** L'olio essenziale di clementine. *Essenze Deriv. Agrumari* 44, 117-123.
- **Camarda, L., Di Stefano, V., Del Bosco, S.F., Schillaci, D. (2007).** Antiproliferative activity of *Citrus* juices and HPLC evaluation of their flavonoid composition. *Fitoterapia*, 78, 426-429.

## Références bibliographiques

- **Chaaib Kouri, F. (2004).** Investigation phytochimique d'une brosse à dent africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (*Syn. Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae). Thèse de doctorat, Université de Lausanne, France, 200p.
- **Chikh, M. (1987).** Contribution à l'étude de l'influence des dates de récoltes et de la durée de conservation sur la germination des pépins d'agrumes. Mémoire d'ingénieur, Batna, 63p.
- **Colombo, A. (2004).** La culture des agrumes. Editions, De Vecchi, S.A. Paris, France, 133p.
- **Coode, M.J.E. (1979).** Rutacées, in bosser, J., Cadet, T., Guého, J., Marais, W. Ed, Flore des Mascareignes: La Réunion, Maurice, Rodrigues. 64. Basalminacées à 68. Bursétacées. *The sugar industry research institute, mairitius*: 1-27.
- **Cronquist, A. (1988).** The Evolution and Classification of Flowering Plants. 2<sup>éd.</sup> The New York Botanical Garden, New York, 555p.
- **De-Reynal, B., Multon, J.L. (2009).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 4<sup>ème</sup> édition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 702p.
- **Del Rio, J.A., Fuster, M. D., Gomez, P., Porras, I., Garcia-Lidon, A., Ortuno, A. (2004).** *Citrus limon* : a source of flavonoid of pharmaceutical interest. *Food chem...*, 84:457-461.
- **DSA, (2015).** La direction des services agricoles de la wilaya de Tlemcen.
- **Dugrand-Judek, A. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre *Citrus*. Thèse de Doctorat, École doctorale 410 Sciences et Ingénierie Ressources Procédés Produits Environnement, Université de Lorraine, 286p.
- **El-hawary, S.S., Taha, F.K., Abdel-Monem, R.A., Kirillos, N.F., Mohamed, A.A. (2013).** Chemical composition and biological activities of peels and leaves essential oils of four cultivars of *Citrus deliciosa* var. *tangarina*. *Am. J. Essent. Oil*, 1, 1-6.
- **Ferhat, M.A., Meklati, B.Y., Chemat, F. (2010).** *Citrus* d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction. ED. OPU, n°5130. Alger. 157p.
- **Fernandez, X., Chemat, F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation, Vuibert, Paris, 288p.
- **Gazea, F., Calvarano, I., Calvarano, M. (1998).** Characteristics of new *Citrus* hybrids essential oil, *Citrus clementina*, *C. limon*. *J. Essent. Oil Res.*, 10, 235-239.
- **Gazi, M.R., Kanda, K., Yasuda, M., Kato, F. (2004).** Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*. *Pakistan. Journal of Biological Sciences*, 7, 1365-1370.

## Références bibliographiques

- **González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A. Viguera, G. (2010).** Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51, 327-345.
- **Halliwell, B. (1990).** Comment caractériser un antioxydant biologique. *Communications de recherche sur les radicaux libres*, 9(1), 1-32.
- **Hamdani, S. (2018).** Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles des agrumes cultivés dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou –Bekr Belkaid –Tlemcen, 42p.
- **Huet, R. (1991).** Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 46, 551-576.
- **Hard, G.C., Whysner, J. (1994).** Risk assessment of d-limonene: an example of male rat-specific renal tumorigens. *Critical Reviews in Toxicology*, 24(3), 231-254.
- **Heywood, V.H. (1996).** Les plantes à fleurs. Editions Nathan, Paris, 336p.
- **Hosni K., Zahed N., Cherif, R., Abid, I. (2010).** Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*, 123(4), 1098-1104.
- **Merle, H., Morón, M., Blázquez, A., Herminio, Boira, M. (2004).** Taxonomical contribution of essential oils in mandarins cultivars. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia, *Biochemical Systematics And Ecology*, 32. 491-497.
- **Imbert, E. (2005).** Méditerranéen *Citrus*. CLAM Économico commission secretary. Department of the Cirad. Market News service.
- **ITAB. (2005).** Produire des agrumes en agriculture biologique. Ed. ITAB., 4p.
- **I.T.A.F. (2002).** Relevés climatologiques. Manuscrit I.T.A.F., Boufarik, 18p.
- **Jacquemond, C., Curk, F., Heuzet, M. (2013).** Les clémentiniers et autre petits agrumes (ed.).versailles : Ed , Quae, 37-107. ( savoir-faire) ISBN 978-2-7592-2067-0
- **Kirbaşlar, İ Ş., Gök, A., Gülay Kirbaşlar, F., Tepe, S. (2012).** Volatiles in Turkish clementine (*Citrus clementina* Hort.) peel, *Journal of Essential Oil Research*, 24(2), 153-157.
- **Kouame, C., Ouattara, Z. A., Konan, M. K., N’Gaman-Kouassi, C. K. C., Tomi, F., Mamyrbekova-Bekro, J. A., Bekro, Y.-A. (2017).** Quantitative organic composition and antioxidant potential of the essential oil from *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae) acclimated in Cote d’Ivoire. *Int. J. Curr. Res.*, 10, 73602-73605
- **Kuaté, J., Fouré., E., Rey, J.Y. (1994).** Symptômes de la cercosporiose des agrumes due à *Phaeoramularia angolensis*. *Fruits*, 49(1), 31-36.

## Références bibliographiques

- **Ladanya, M.S. (2008).** *Citrus fruit: Biology, Technology and Evaluation.* Elsevier, 585p.
- **Lardry, J.M., Haberkorn, V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie la Revue*, 61, 14-17.
- **Leporini, M., Tundis, R., Sicari, V., Pellicanò, T.M., Dugay, A., Deguin, B., Loizzo, M.R. (2020).** Impact of extraction processes on phytochemicals content and biological activity of *Citrus clementina* Hort. ex Tan. leaves: New opportunity for under-utilized food by-products. *Food Res. Int.*, 127, 108742.
- **Letrache, F. (2012).** Développement des agrumes dans la vallée du saf-saf à Salah Bouchaour. Journées d'étude à l'université de Skikda, département d'agronomie, DSA/SKIKDA.
- **Lota, M.L., De Rocca Serra, D. Tomi, F. Casanova, J. (2001)** Chemical variability of peels and leaf essential oils of 15 species of mandarins. *Biochem. Syst. Ecol.*, 29, 77-104.
- **Loussert, R. (1987).** Les agrumes, l'arboriculture. Ed. Ballière, Paris, 136p.
- **Loussert, R. (1989a).** Les agrumes : Production. Ed. Lavoisier, Paris, Volume II, 125p.
- **Loussert, R. (1989b).** Les agrumes : arboriculture. Ed. Technique agricoles méditerranéennes, Paris, 113p.
- **M.A.D.R.P. (2013).** L'agriculture dans l'économie nationale, Ed. Ministère de l'agriculture, 48p.
- **Masango, P. (2005).** Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J. Clean. Prod.*, 13 (8), 833-839.
- **Mailhebiau, P. (1994).** "La nouvelle aromathérapie : Biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Ed. Jakin, Lausanne, 635p.
- **Merle, H., Morón M., Blázquez, A., Herminio, M., Boira. (2004).** Taxonomical contribution of essential oils in mandarins cultivars. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia, *Biochemical Systematics And Ecology*, 32, 491-497.
- **Mireille, G. (2002).** Mémento de l'agronome. Ministère des affaires étrangères. Ed. cirad Grete, paris, France, 930p.
- **Mondello, L., Dugo, P., Bartle, K.D. (1995).** Automated HPLC-HRGC: a powerful method for essential oil analysis. Part V. Identification of terpenes hydrocarbons of bergamot, lemon, mandarin, sweet orange, bitter orange, grapefruit, clementine and mexican lime oils by coupled HPLC-HRGC-MS (ITD). *Flav. Fragr. J.*, 10, 33-42.

## Références bibliographiques

- **Morel, R. (1969).** Le livre des arbres et arbustes et arbrisseaux. 1<sup>er</sup> Ed., 512p.
- **Naimi, Z. (2020).** Extraction de l'huile essentielle de la clémentine, activité antioxydante et formulation d'une crème. Mémoire de Master, Université Saad Dahlab, Blida, 44p.
- **Ndoeunice Golda D., (2011).** Evaluation des facteurs de risque épidémiologie de la phaeoramulariose des agrumes dans les zones humides du Cameroun. Thèse de doctorat en biologie intégrative des plantes. Montpellier, 202p.
- **Nguyen, T.T., Tran, T.T., Hua, T.M., Diep, T.T., Nguyen Chau, D.K., Duus, F., Le, T.N. (2016).** Investigation of peels and leaf essential oils of *Citrus clementina* Hort. ex Tan. growing in the south of Vietnam. *J. Essent. Oil Res.*, 28, 96-103.
- **Okwn, D.E., Emenike, I.N. (2006).** Evaluation of phytonutrients and vitamins contents of *Citrus fruits* *International journal of Molecular medicine and Advance Science*, 1, 1-6.
- **Organization, W.H., I.A.F.R.O. (1993).** Cancer, Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, 56p.
- **Ouis, N. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat, Université d'Oran 1, 223p.
- **Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I., lieva, M. (2002).** Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Z. Naturforsch.*, 57, 640-644.
- **Pfaller, M. A., Messer, S. A., Karlsson, Ä., Bolmström, A. (1998).** Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9), 2586-2589.
- **Praloran, J.C. (1971).** Les agrumes, techniques agricole et productions tropicale. Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, 561p.
- **Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O.I. (2010).** Bioactive phenolic and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian *citrus* fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278.
- **Ruberto, G., Biondi, D., Piattelli, M., Rapisarda, P., Starrantino, A. (1993).** Profiles of essential oils of new *Citrus* hybrids. *Flav. Fragr. J.*, 8, 179-184.
- **Ruberto, G., Biondi, D., Piattelli, M., Rapisarda, P., Starrantino, A. (1994).** Essential oil of new *Citrus* hybrid, *Citrus clementina* x *C. limon*. *J. Essent.Oil Res.*, 6, 1-8.

## Références bibliographiques

- **Ruberto, G., Renda, A., Piattelli, M., Rapisarda, P., Starrantino, A. (1997).** Essential oil of two new pigmented *Citrus* hybrids, *Citrus clementina*-*Citrus sinensis*. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 467-471.
- **Ruberto, G., Rapisarda, P. (2012).** Essential oils of new pigmented *Citrus* hybrids: *Citrus sinensis* L. osbeck x *C. clementina* Hort. ex Tanaka. *J. Food Sci.*, 67, 2778-2780.
- **Russo, D., Bonomo, M.G., Salzano, G., Martelli, G.B.G., Milella, L. (2012).** Nutraceutical properties of *Citrus clementina* juices. *Pharmacologyonline*. 1, 84-93.
- **Santos, R.M., Fortes, G.A.C., Ferri, P.H., Santos, S.C., (2011).** Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora*. *J. Pharmacogn.*, 21(4), 581-586.
- **Sdiri, S., Bermejo, A., Aleza, P., Navarro, P., Salvador, A.(2012).** Phenolic composition, organic acids, sugars, vitamin C and antioxidant activity in the juice of two new triploid late-season mandarins. *Food Res. Int.*, 49, 462-468.
- **Seif, A., Hillocks, R. (1993).** Phaeoramularia fruit and leaf spot of citrus with special reference to Kenya. *International Journal of Pest Management*, 39(1), 44-50.
- **Swingle, W.T., Reece, P.C. (1967).** The botany of citrus and its wild relatives of the Orange subfamily. In: W. Reuther, H. Webber and L. Batchelor (Eds.) the *Citrus* industry. vol. I, Revised edition, University of California, Berkeley, 190-430.
- **Tanaka, T. (1961).** Citrologia : semi centennial commemoration papers on *Citrus* studies. *Citrologia supporting foundation*, Osaka, Japan, 144p.
- **Touscher, E., Anton, R., Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques. Ed. Tec et Doc-Lavoisier, Paris. 79p.
- **Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D., Giammanco, M. (2007).** *Citrus* flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry*, 104, 466-479.
- **Tundis, R., Bonesi, M., Sicari, V., Pellicanò, T.M., Tenuta, M.C., Leporini, M., Menichini, M., Loizzo, M.R. (2016).** *Poncirus trifoliata* (L.) Raf: Chemical composition, antioxidant properties and hypoglycemic activity via the inhibition of amylase and glucosidase enzymes. *J. Funct. Foods*, 25, 477-485.
- **Valnet, V.J. (2001).** La santé par les fruits, légumes et les céréales. Ed. Vigot, 281p.
- **Valy, D. (1994).** Les agrumes mémento de l'agronome. République Française, Ministère de la coopération, Agenda Agricole.
- **Verzera, A., Trozzi, A., Mondello, L., Dellacassa, E., Lorenzo, D. (1998).** Uruguayan essential oil. Part X. Composition of the oil of *Citrus clementina* Hort. *Flav. Fragr. J.*, 13, 189-195.

## *Références bibliographiques*

- **Ye, X., Chen, J., Liu, D., Jiang, P., Shi, J., Xu, S., Wu, D., Xu, J., Kakuda, Y. (2011).** Identification of bioactive composition and antioxidant activity in young mandarin fruits. *Food Chemistry*, 124, 1561-1566.

**Tableau 1 : Rendements (en %) en huile essentielle du zeste de *Citrus clementina* (Station El Fehoul)**

<b>Echantillons</b>	<b>Poids (g) (Matériel végétal)</b>	<b>Poids HE (g)</b>	<b>Rendement (%)</b>
<b>E 1</b>	300	2,6	0,86
<b>E 2</b>	245	1,5	0,612
<b>E 3</b>	326	2,2	0,674
<b>E 4</b>	234	1,9	0,811
<b>E 5</b>	273,6	0,8	0,293
<b>E 6</b>	296,1	2	0,675
<b>E 7</b>	218	1,5	0,688
<b>E 8</b>	258,5	1,5	0,58
<b>E 9</b>	237,6	0,7	0,294
<b>E 10</b>	240	1,0	0,416
<b>Moy ± ET</b>	0,59 ± 0,198		

E : Echantillon, HE : Huile essentielle, Moy : Moyenne, ET : Ecart type

**Tableau 2 : Rendements (en%) en huile essentielle du zeste  
de *Citrus clementina* (Station Cite des Oliviers)**

<b>Echantillons</b>	<b>Poids (g) (Matériel végétal)</b>	<b>Poids HE (g)</b>	<b>Rendement (%)</b>
<b>E 1</b>	222	1,8	0,81
<b>E 2</b>	273	2,5	0,91
<b>E 3</b>	225	1,4	0,67
<b>E 4</b>	315	1,5	0,47
<b>E 5</b>	220	1,3	0,59
<b>E 6</b>	185	1,5	0,81
<b>E 7</b>	191	1,9	0,994
<b>E 8</b>	185	1,2	0,64
<b>E 9</b>	179	1,5	0,837
<b>E 10</b>	186	1,7	0,91
<b>Moy ± ET</b>	0,764 ± 0,165		

E : Echantillon, HE : Huile essentielle, Moy : Moyenne, ET : Ecart type