

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض  
Faculté Des Sciences de la Nature et  
de la Vie et des Sciences de la Terre



جامعة الجيلالي بونعاما – خميس مليانة  
Université Djilali Bounaama  
Khemis Miliana

Réf : 24/FSNVST/D..... /Ms/.....

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

### MASTER

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologies

Spécialité : Microbiologie Appliquée

---

## Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Néroli bigarade *Citrus aurantium L.*

---

*Présenté par :*

Kherrachi Khawla

Boutseldja Aicha

Soutenu publiquement le 27/06/2024

Devant le jury composé de :

*Promotrice* Mme Delhoum H

MCB U. Khemis Miliana

*Présidente* Mme Halfaoui Z

MAA U. Khemis Miliana

*Examineur* Mme Guermache L

MAB U. Khemis Miliana

Année Universitaire : 2023/2024

## **Remerciements**

*Tout d'abord, nous exprimons notre gratitude envers le tout puissant **ALLAH** pour nous avoir donné la force, le courage et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Il est difficile de résumer en quelques lignes notre reconnaissance envers notre encadreur de mémoire, **Dr. DELHOUM Hadia**, sa confiance et sa patience ont joué un rôle crucial dans la réalisation de ce travail. Ses explications éclairantes ont éclairci notre chemin de recherche, et sa collaboration a été précieuse pour mener ce modeste travail à bien. Nous lui adressons des remerciements chaleureux.*

*Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements aux membres du jury président et examinateur : Mme **GERMACHE Lamis**, Mme **HALFAOUI Zehor**, qui ont accepté d'évaluer notre travail.*

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance spéciale envers Mme. **MEBRAK Fatiha**, pour leur assistance précieuse tout au long de notre travail.*

*Enfin, nos remerciements s'étendent à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.*

**Aicha, Khawla**

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mon cher Père, mon soutien moral, ma source de joie et de bonheur, tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que j'ai toujours eu pour toi, je voudrais le remercier pour son sacrifice, ses conseils.*

*Ma Mère qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*A mes frères : Mohammed, Ahmed, Karim et mes sœur et ceux qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.*

*Ma chère collègue khawla mon bras droit.*

*Mes amies pour les bons moments passés ensemble tous au long de mes études.*

***Aicha***

## ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail à :*

***A ma chère mère,***

***A mon cher père,***

*Mais aucune dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect, car je ne pourrais jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lesquels ils m'ont toujours entourer depuis mon enfance.*

*A mes chers frères et ma chère sœur pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

*Et à toute ma famille,*

*A toutes mes amies, et surtout ma chère collègue **Aicha***

*A tous les moments qu'on a passé ensemble, à tous nos souvenirs !*

*Je vous souhaite à tous longue vie pleine de bonheur et de prospérité.*

***Khawla***

## Résumé

*Citrus aurantium* communément appelée orange amer ou naranj (نارنج) en arabe est un arbre de la famille des rutacées, dont les fruits très amères et non comestibles. Mais toutes les parties de l'orange amer sont utilisées à diverses fins, notamment les huiles essentielles, nous sommes intéressés à étudier une partie de cette plante qui est : la fleur. Les fleurs fraîches de l'orange amer donnent l'huile essentielle de Néoli bigarade, un ingrédient précieux en parfumerie et en aromathérapie. Pour cela, nous avons évalué l'activité antibactérienne de cette huile essentielle.

Notre travail consiste tout d'abord à étudier l'extraction de l'huile essentielle de Néoli bigarade qui est extraite par hydrodistillation avec un rendement de 0,069 %. Et déterminer ses caractéristiques physicochimiques qui montrent un pH de 4,5, l'indice de réfraction de 1.469 et l'acidité de 1.122 mg de KOH/g.

L'antibiogramme nous a permis de constater que parmi les sept antibiotiques utilisés, seuls la Nétilmicine, la Céfoxitine, la Ticarcilline +C, la Ticarciline et la Pénicilline, étaient actifs contre les trois souches bactériennes testées ; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Cette dernière s'est avérée être la plus sensible. En revanche, l'acide fusidique et l'oxacilline ont montré une activité uniquement contre *Staphylococcus aureus* et étaient inactifs contre les autres bactéries testées.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Néoli bigarade par la méthode d'aromatogramme, a montré qu'elle a une forte activité contre les trois souches bactériennes. La souche la plus sensible est *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Les mots clés :** *Citrus aurantium*, Néoli bigarade, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antimicrobienne, aromatogramme, caractéristique physico chimiques.

## Abstract

*Citrus aurantium*, commonly known as bitter orange or naranj (نارنج) in Arabic, is a tree from the Rutaceae family. Its fruits are very bitter and inedible. However, all parts of the bitter orange are used for various purposes, including extracting essential oils; we are interested in studying a part of this plant that is the flower.

The fresh flowers of the bitter orange tree give the essential oil of Néroli bigarade, a precious ingredient in perfumery and aromatherapy. For this, we evaluated the antibacterial activity of this essential oil.

Our work consists first of studying the extraction of the essential oil of Neroli bigarade which is extracted by hydrodistillation with a yield of 0.069%. In addition, determine its physicochemical characteristics, which show a pH of 4.5, refractive index of 1.469 and acidity of 1.122 mg KOH/g.

The antibiogram showed that among the seven antibiotics used, only Netlimicin, Cefortitin, Ticarcillin +C, Ticarciline and Penicillin, were active against the three bacterial strains tested; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The latter proved to be the most sensitive. In contrast, fusidic acid and oxacillin showed activity only against *Staphylococcus aureus* and were inactive against other bacteria tested.

The evaluation of the antibacterial activity of the essential oil of Neroli bigarade by the aromatogram method showed that it has a strong activity against the three bacterial strains. The most sensitive strain is *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Keywords:** *Citrus aurantium*, Neroli bigarade, essential oil, antibacterial activity, aromatogram, physico-chemical characteristic.

## ملخص

*Citrus aurantium*، المعروفة باسم البرتقال المر أو البرتقال الحامض (نارنج) بالعربية، هي شجرة من عائلة روتاسي. ثمارها شديدة المرارة وغير صالحة للأكل. ولكن جميع أجزاء البرتقال المر تُستخدم لأغراض متنوعة مثل استخراج الزيوت العطرية. نحن مهتمون بدراسة جزء منهذه النبتة وهو الزهرة.

تمنح الزهور الطازجة لشجرة البرتقال المرة الزيت الأساسي Néroli bigarade، وهو مكون ثمين في صناعة العطور والعلاج بالروائح. لهذا، قمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذا الزيت الأساسي.

يتكون عملنا أولاً من دراسة استخراج الزيت الأساسي Néroli bigarade الذي يتم استخراجه عن طريق الاستخراج المائي بعائد 0.069%. ويحدد خصائصه الفيزيائية الكيميائية التي تظهر درجة حرارة من 4,5، ومعامل انكسار 1,469 وحموضة 1,122 مجم KOH / جم.

أظهر antibiogramme أنه من بين المضادات الحيوية السبعة المستخدمة، فقط نتليميسين وسيفورتيتين وتيكارسيلين + سي وتيكارسيلين والبنسلين، كانت نشطة ضد السلالات البكتيرية الثلاث التي تم اختبارها؛ *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. ثبت أن الأخير هو الأكثر حساسية. في المقابل، أظهر حمض الفوسيديك والأوكساسيلين نشاطاً فقط ضد *Staphylococcus aureus* وكانا غير نشطين ضد البكتيريا الأخرى التي تم اختبارها.

أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي Néroli bigarade بواسطة طريقة aromatoigramme، أن لديه نشاطاً قوياً ضد السلالات البكتيرية الثلاث. السلالة الأكثر حساسية هي *Escherichia coli* ATCC 259.

**الكلمات المفتاحية:** *Citrus aurantium*، Néroli bigarade، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للبكتيريا، الاروماتوغرام، الخصائص الفيزيائية الكيميائية.

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**Introduction .....1**

### **Partie I : Synthèse bibliographique**

1. Le genre <i>citrus</i> .....	4
2. <i>Citrus aurantium</i> L.....	4
2. 1 Dénomination.....	4
2.2 Généralité.....	4
2.3 Taxonomie.....	5
2.4 Description botanique.....	5
2. 5 Composition chimique de <i>Citrus aurantium</i> .....	6
2. 6 Répartition géographique.....	6
2. 7 Utilisation de <i>Citrus aurantium L.</i> .....	6
2.7.1Le rôle de <i>Citrus aurantium</i> en conservation des aliments.....	6
2.7.2 Le rôle de <i>Citrus aurantium</i> en Aromathérapie.....	6
2.7.3 Le rôle de <i>Citrus aurantium</i> dans la production de pâtes et papiers.....	7
2.7.4 Le rôle de <i>Citrus aurantium</i> dans les Industries Agroalimentaires et Cosmétiques.....	7
2.8 Les activités biologiques de <i>Citrus aurantium</i> L.....	7
2.8.1 Activité antibactérienne.....	7
2.8.2 Activité antifongiques.....	7
2.9 Les huiles essentielles de <i>Citrus aurantium L.</i> .....	8
3. L'huile essentielle de Néroli bigarade.....	8
3.1 Généralité.....	8
3.2Caractéristiques.....	8
3.3 Les effets de Néroli.....	9
3.3.1 Effets anxiolytiques sur les troubles du sommeil.....	9
3.3.2 Effet aphrodisiaque à la ménopause et diminution du syndrome prémenstruel.....	9

3.3.3 Effet antalgique.....	9
3.4 Principaux Usages En Aromathérapie.....	9
3.5 Précaution d'emploi.....	10

## **PARTIE II : Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et Méthodes**

1. Objectif.....	13
2. Site de récolte.....	13
3 ;Matériel végétale.....	13
4. Extraction de l'huile essentielle.....	14
4.1 Calcul du rendement .....	14
5. Caractéristiques physico-chimiques.....	14
5.1 L'indice d'acide.....	14
5.2 L'indice de réfraction.....	15
5.3 Le potentiel d'hydrogène (PH).....	15
6. Evaluationde l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Néroli bigarade <i>Citrusaurantium</i> <i>L.</i> .....	16
6.1 Méthode d'antibiogramme.....	17
6. 2 Méthode d'aromatogramme.....	17

### **Chapitre II : résultats et discussion**

1. Calcule de rendement.....	20
2. Caractéristiques physico-chimiques.....	20
2.1Détermination de PH.....	21
2.2 L'indice de réfraction.....	21
2.2 L'indice d'acide.....	22
3. Evaluationde l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Néroli bigarade <i>Citrus</i> <i>aurantium L.</i> .....	22
3.1Méthode d'antibiogramme.....	22
3.2 Méthode d'aromatogramme.....	25

## Liste des abréviations

HE : Huile essentielle

L: Link

C:*Citrus*

m: mètre

Cm : Centimètre

AFNOR : Association française de normalisation

CE : Cosmétique européenne

Kg : kilogramme

R : rendement

IR : indice de réfraction

Ia : indice d'acide

KOH : hydroxyde de potassium

Ph : potentiel d'hydrogène

°C : Degré Celsius

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

SM : solution mère

ATB : Antibiotique

*E. coli* : *Escherichia coli*

*P. aeruginosa* : *Pseudomonas aeruginosa*

*S.aureus* : *Staphylococcus aureus*

CMI : Concentration minimale inhibitrice

g : gramme

mm : Millimètre

mg : Milligramme

µl : Microlitre

AMH : Agar Muller Hinton

## Liste des figures

Figure 01 : les espèces de genre <i>Citrus</i> .....	4
Figure 02 : <i>Citrus aurantium L</i> (original).....	5
Figure 03 : Algérie, Blida, la localisation géographique d'Oued Alleug.....	13
Figure 04 : Fleurs de <i>Citrus aurantium L</i> (original).....	14
Figure 05 : principe de la méthode d'aromatogramme.....	18
Figure 06 : Résultat de PH de l'huile de Néroli bigarade de <i>Citrus aurantium L</i> sur papier indicateur de PH.....	21
Figure 07 : Indice de réfraction de l'huile de Néroli bigarade <i>Citrus aurantium</i> .....	21
Figure 08 : titrage acido-basique.....	22
Figure 9 : les résultats de l'antibiogramme d' <i>E. Coli</i> ATCC 25922.....	24
Figure 10 : les résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	24
Figure 11 : les résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	25
Figure 12 : Résultats de test antibactérien de néroli bigarade vis-à-vis de bactérie <i>E. coli</i> .....	28
Figure 13 : Résultats de test antibactérien de néroli bigarade vis-à-vis de bactérie <i>staphylococcus aureus</i> .....	28
Figure 14: Résultats de test antibactérien de néroli bigarade vis-à-vis de bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29

## Liste des tableaux

Tableau 01 : classification de Citrus aurantium L.....	5
Tableau 02 : Les Souches utilisés.....	16
Tableau 03 : la liste des antibiotiques utilisés.....	17
Tableau 04 : propriétés physico-chimiques de Néroli bigarade.....	20
Tableau 05 : Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.....	23
Tableau 06 : Les diamètres des zones d'inhibition de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de Néroli bigarade.....	26

# **Introduction**

## Introduction

Les maladies infectieuses sont causées par des bactéries, des virus, des parasites et des champignons, elles sont dues à une interaction complexe entre l'agent pathogène, l'hôte et l'environnement. La découverte des antibiotiques avait éradiqué les infections qui ravageaient autrefois l'humanité (**Hemaiswarya et al. 2008**). Leur utilisation a permis de diminué le taux de mortalité et de morbidité mondiale depuis longtemps. Cependant, le mauvais usage de ces agents antimicrobiens et leur utilisation accrue ont eu pour conséquence de faire apparaître certaines formes de résistances des souches microbiennes contre balançant les effets des antibiotiques(**Goossens et al., 2005**).

Face à ce problème, beaucoup d'études ont été réalisées pour développer des molécules alternatives efficaces contre ces maladies infectieuses. Les plantes médicinales et aromatiques constituent une source importante de molécules bioactives qui pourraient être exploitées dans la thérapie des maladies infectieuses. En effet, depuis l'antiquité, les plantes et leurs dérivés, tels que les huiles essentielles(HE), ont été utilisés dans la médecine populaire (**Bouyahya et al. 2017**).

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Cheurfa et al. 2013**).

*Citrus aurantium L*, communément appelé orange amère, est une plante très répandue et facile à se procurer, appartenant à la famille des Rutaceae. Les feuilles, les fruits, les écorces, les fleurs et les racines sont traditionnellement utilisé pour le traitement d'un large éventail de maladies. Il est également connu sous le nom d'orange aigre, orange de Séville, bigarade orange (**Karthikeyan et Karthikeyan 2014**).

Les fleurs de *C. aurantium* sont largement utilisées dans la région méditerranéenne comme arôme alimentaire et dans plusieurs boissons et pâtisseries. Elles sont également utilisées dans les produits médicaux pour leurs propriétés antidépressives, anti-infectieuses et sédatives, et dans les produits de soins de la peau (**Maksoud et al. 2021**).

En plus des eaux aromatiques, la distillation des fleurs d'oranger amer donne le Néroli, une huile essentielle rare. Cette huile volatile possède un parfum sensuel et constitue le cœur de l'un des parfums les plus durables au monde, l'eau de Cologne. Elle est également utilisée en pharmacie comme agent de saveur. En fait, la Food and Drug Administration (FDA) a approuvé l'utilisation de fleurs d'orange amère en petites quantités même dans certains médicaments (**Jeff, 2002**).L'huile de néroli possède de nombreuses propriétés thérapeutiques, notamment sédatives, calmantes, toniques, cicatrisantes, aphrodisiaques, antidépressives et antispasmodiques (**Jeannot et al. 2005**).

Bien que l'huile de néroli soit produite dans de nombreux pays comme l'Algérie, le Maroc, l'Égypte, la France et l'Espagne, les huiles produites en Tunisie ont toujours été considérées comme les plus fines et les plus chères. L'activité de distillation des fleurs de *C. aurantium L*. représente une valeur considérable pour l'économie tunisienne puisqu'elle dégage des

revenue de trois à quatre millions de dinars par an à l'exportation. Le néroli est principalement exporté vers la France, en particulier vers la région de Grasse (NIS, 2008).

Malgré l'importance économique de l'huile de Néroli Algérienne, aucune étude n'a été menée pour étudier ses activités biologiques. Cela nous a incités à étudier les fleurs de *C. aurantium L.* pour leur paramètre physicochimique et leurs activités antimicrobienne.

Pour ce faire, le présent travail est divisé en deux grandes parties :

- Une première partie intitulée synthèse bibliographique, qui comporte un seul chapitre :

Chapitre I : parle de bigaradier ou orange amer (*Citrus aurantium L.*). Et résume de manière générale des notions importantes concernant l'huile essentielle de Néroli bigarade.

- Et une deuxième partie intitulée étude expérimentale, qui se compose de deux chapitres :

Le chapitre I, expose le matériel et les méthodes d'étude concernant la partie pratique de notre travail.

Dans le chapitre II, il sera question de l'analyse et de l'exploitation des résultats issus des expériences réalisées.

A la fin de notre mémoire, sera issue une conclusion générale résumant notre démarche ainsi que l'analyse des résultats de l'étude expérimentale.

# **PARTIE I**

## Synthèse Bibliographique

## 1. Le genre *Citrus* :

*Citrus* est le nom donné au groupe de fruits de la famille Ruscaceae (Rutaceae) et est le plus grand genre dans toute famille de fruits. C'est le produit horticole le plus vendu au monde. Les espèces économiquement importantes de ce genre sont le citron (*C. Limon*), le citron vert (*C. Aurantifolia*), l'orange douce (*C. Sinensis*), l'orange amère (*C. Aurantium*), la mandarine (*C. Reticulate*), le pamplemousse (*C. Paradise*), le cédrat (*C. Medica*) et la shaddock (*C. Maxima*) (Hussain et al. 2021).



Figure 1 : les espèces de genre *Citrus* (Hussain et al. 2021).

## 2. *Citrus aurantium* L :

### 2.1. Dénominations :

*Citrus aurantium*, L., est un fruit caractérisé par la forte saveur qui lui a donné son nom (Karabiyikli et al, 2014).

- ✓ Français : bigaradier, oranger amer
- ✓ Anglais : Bitter orange, Seville orange, sour orange, bigarade orange
- ✓ Arabe : نارنج (naranj) (Ghédira et Goetz, 2015).

### 2. 2. Généralité :

*Citrus aurantium* L., également connu sous le nom d'orange amère, orange de Séville ou bigarade (Maksoud et al. 2021). Est un arbre de la famille des Rutacées (agrumes), ces feuilles, ces fruits et ces fleurs parfumés ont de nombreuses applications pharmaceutiques, alimentaires et en parfumerie. Il est également utilisé comme un porte-greffe pour d'autres agrumes et un arbre décoratif (Karima et Makhlouf, 2021). Il est traditionnellement connu pour être utile pour le traitement d'un large éventail de maladies comme les maux d'estomac, les vomissements, la pression artérielle, la toux, le rhume, la bronchite, les maux d'oreilles, la dysenterie, la diarrhée, les douleurs abdominales et la fièvre (Karthikeyan et Karthikeyan 2014).

### 2. 3 Taxonomie : (Ghédira et Goetz, 2015)

Tableau 1 : classification de *Citrus aurantium L*

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Superdivision</b>	Embryophyta
<b>Division</b>	Magnoliophyta (Tracheophyta)
<b>Subdivision</b>	Spermatophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Super ordre</b>	Rosanae
<b>Ordre</b>	Sapindales
<b>Famille</b>	Rutaceae
<b>Genre</b>	<i>Citrus L.</i>
<b>Espèce</b>	<i>Citrus aurantium L.</i>

### 2. 4. Description botanique : (Allais, 2009)

L'oranger amer est un bel arbrisseau de 4 à 5 m de haut. Son tronc est très ramifié, ses branches épineuses et son feuillage persistant est parfumé.

#### La feuille :

Ovale-lancéolée, coriace et d'un vert brillant, possède un limbe articulé sur un pétiole dilaté en une aile cordiforme.

#### Les fleurs :

Blanches et très odorantes, groupées par deux ou trois, prennent naissance à l'aisselle des feuilles. Elles ont un calice cupuliforme, cireux, cinq pétales épais et une vingtaine d'étamines soudées à la base par leurs filets. Elles s'épanouissent de la fin avril au début juin.

#### Les fruits :

Plus petits que ceux d'un oranger doux (7 à 8 cm de diamètre), sont ovoïdes et rouge orangé à maturité. Ils sont aromatiques, de saveur amère et acide, ce qui les rend impropres à la consommation.



Figure 2 : *Citrus aurantium L* (original)

## **2. 5. Composition chimique de *Citrus aurantium* :**

La composition chimique de *C. aurantium* est responsable des effets favorables à la santé. La composition chimique comprend des vitamines, des minéraux, des composés phénoliques et des terpénoïdes. Parmi les divers composants chimiques de *C. aurantium*, les flavonoïdes appartenant aux phénoliques ont été reconnus comme importants en raison de leur rôle physiologique et pharmacologique et de leurs avantages pour la santé. La deuxième classe de métabolites secondaires trouvés dans *C. aurantium* est les limonoïdes. Ces derniers ont été considérés comme des triterpénoïdes oxygénés car ils contiennent un nombre relativement élevé d'atomes d'oxygène dans leurs structures. Une autre classe de composés contenus dans *C. aurantium* est phényléthylamines alcaloïdes avec p-synéphrine étant le plus abondant (**Suntar et al. 2018**).

Les parties de *C. aurantium* comprenant le jus, les fleurs, les graines, les feuilles et les écorces sont méthodiquement discutées concernant leur contenu en molécules bioactives. Il est à noter que la composition chimique ou le pourcentage de biomolécules est évidemment affectée par la zone géographique, la saison de croissance et la période de récolte (**Maksoud et al. 2021**).

## **2. 6. Répartition géographique :**

Le bigaradier est originaire d'Asie mineure et il a été introduit dans toute l'Europe et sur le pourtour méditerranéen. Il est maintenant cultivé dans le sud de l'Europe, le littoral méditerranéen et dans d'autres régions subtropicales notamment dans le sud de la France, en Italie, Espagne, Tunisie, Algérie, Côte d'Ivoire, Haïti, États-Unis, Brésil, etc. (**Ghédira et Goetz, 2015**).

## **2. 7. Utilisation de *Citrus aurantium* L :**

### **2.7.1. Le rôle de *Citrus aurantium* en conservation des aliments :**

L'intérêt pour les conservateurs naturels a considérablement augmenté en raison des tendances indésirables des conservateurs synthétiques (**Teshome et al. 2022**). Grâce à ses propriétés antimicrobiennes et antioxydants, l'huile essentielle de *Citrus aurantium* est devenue une alternative intéressante à l'utilisation de conservateurs synthétiques (**Anwar et al. 2016**). Cette section explore les propriétés antimicrobiennes et antioxydants de *Citrus aurantium* en vue d'évaluer ses potentiels de conservation des aliments (**Ogunro et al. 2023**).

### **2.7.2. Le rôle de *Citrus aurantium* en Aromathérapie :**

L'aromathérapie utilisant des HE d'agrumes est pratiquée comme méthode de traitement depuis l'antiquité. L'aromathérapie est utilisée pour soulager de nombreux symptômes, comme les douleurs corporelles, les nausées, le vomissement, l'anxiété, la dépression, le stress, l'insomnie, etc. Plusieurs rapports scientifiques ont été publiés concernant l'utilisation d'HE dans le traitement d'un certain nombre de problèmes médicaux, notamment l'hypertension, l'hypotension, la dysfonction cognitive, le stress physique et psychologique et l'épuisement. De nombreux HE d'agrumes, tels que l'orange amère ont montré des effets anxiolytiques, antidépresseurs, anticonvulsivants, analgésiques et sédatifs et influencent le comportement émotionnel général. (**Agarwal et al. 2022**).

### **2.7.3. Le rôle de *Citrus aurantium* dans la production de pâte et papier :**

Un inconvénient majeur dans la production de pâte et papier est l'insuffisance de matières premières [12]. Deux principales caractéristiques distinguent l'arbre *Citrus aurantium* comme une matière première appropriée pour la production de pâte et papier, à savoir sa croissance rapide et sa composition chimique. En particulier, le contenu élevé en cellulose et holocellulose ainsi que la faible teneur en lignine, essentielle pour la production de papier, distinguent *Citrus aurantium* dans la production de papier [12]. Par conséquent, l'arbre *Citrus aurantium* se présente comme une bonne matière première pour la production de pâte et papier (Ogunro et al. 2023).

### **2.7.4. Le rôle de *Citrus aurantium* dans les industries agroalimentaires et cosmétiques :**

*Citrus aurantium* a été étudié principalement comme additif aromatisant par les secteurs de la transformation alimentaire. En plus des boissons alcoolisées et non alcoolisées, des marmelades, des glaces, des sucreries, des boissons gazeuses, des gélatines et des gâteaux, il a également été utilisé pour conférer un arôme aux produits culinaires. En plus d'être utilisé pour faire des infusions, les fleurs de *Citrus aurantium* sont également utilisées pour fabriquer des parfums et des cosmétiques grâce à l'huile essentielle qu'elles produisent. En plus, les écorces de fruits sont utilisées pour faire de la marmelade et le jus du fruit est ajouté aux salades pour leur donner une saveur acidulée. Enfin, *Citrus aurantium* est un composant de certaines recettes sud-américaines et asiatiques, notamment des plats d'accompagnement à base de yaourt et des soupes chaudes avec du sel et du poivre (Ogunro et al. 2023).

## **2. 8 Les activités biologiques de *Citrus aurantium* L :**

### **2.8.1. Activité antibactérienne :**

Les infections bactériennes sont connues pour être mortelles pour la vie humaine depuis les premiers temps. L'utilisation de doses plus élevées d'agents antibactériens et d'une résistance accrue aux médicaments multiples a entraîné une gravité des maladies causées par les bactéries. Cela a conduit les chercheurs à explorer une nouvelle méthode contre les souches bactériennes. À cet égard, les huiles essentielles et leurs constituants chimiques ont un potentiel d'inhibition bactérienne. L'activité antibactérienne des huiles essentielles est connue pour ses effets sur l'inhibition de la croissance bactérienne ou la destruction des cellules bactériennes. L'efficacité de l'huile essentielle fonctionne différemment contre différentes souches bactériennes cibles en fonction de leurs structures (Shankar et al. 2021).

Les extraits et les huiles essentielles d'agrumes sont connus pour être des antimicrobiens naturels, en particulier les bactéries utilisées dans l'industrie alimentaire ainsi que dans l'industrie cosmétique. Plusieurs auteurs ont signalé les propriétés antibactériennes des extraits de *C. aurantium* contre certaines espèces de bactéries (Ogunro et al. 2023).

### **2.8.2. Activité antifongiques :**

Les huiles d'agrumes ont été utilisées dans des formulations dermatologiques pour des applications topiques sur la peau et le cuir chevelu pour prévenir et guérir les maladies en raison de leurs propriétés antifongiques perçues. Plusieurs recherches ont montré l'efficacité de *C. aurantifolia*, mais peu de choses ont été faites pour *C. aurantium* au fil du temps, l'huile d'agrumes a été étudiée contre l'espèce fongique *Malassezia furfur* *in vitro*. Il a été observé que l'huile avait un effet biostatique sur l'organisme avec une zone d'exposition de 2,6 mm,

puisque la plupart des Citrus en des composés phytochimiques similaires, bien que dans des proportions variables, il soit supposé que l'huile de *C. aurantium* peut également avoir des propriétés antifongique (**Ogunro et al. 2023**).

## **2.9. Les huiles essentielles de *Citrus aurantium L* :**

Le bigaradier est un arbre capable de produire trois HE différentes, qu'il ne faut pas confondre :

- ✓ **l'HE de Petit grain bigarade**, élaborée à partir des rameaux qui contiennent les feuilles et les jeunes agrumes.
- ✓ **l'essence d'Orange amère**, fabriquée par expression à froid des zestes du fruit.
- ✓ **l'HE de Néroli bigarade**, obtenue grâce à la distillation des fleurs (**Laurain-Mattar et al. 2023**).

## **3. L'huile essentielle de néroli bigarade :**

### **3.1. Généralité :**

Le nom de Néroli a été donné à l'HE par Marie-Anne de la Trémoille, princesse des Ursins et de Nérola, qui la popularisa. La légende dit qu'elle l'utilisa durant la peste au XVIIe siècle, en Italie (**Laurain-Mattar et al. 2023**).

L'huile de fleur d'oranger amer (ou Néroli) :

- Est un produit essentiel, largement utilisé en parfumerie. Néroli est obtenu par hydro distillation ou vapeur distillation, à partir de fleurs d'orange amère (*Citrus aurantium L.*). Depuis longtemps, la production de néroli est limitée et son coût sur le marché est considérablement élevé.
- Est l'ingrédient classique de la plupart des parfums célèbres et prestigieux et eau de cologne. Il est également utilisé comme ingrédient de saveur dans les aliments et les boissons.
- Est le produit d'un travail laborieux : les fleurs, qui fleurissent entre la fin avril et le début de juin sont collectées manuellement (**Bonaccorsi et al. 2011**).

### **3. 2. Caractéristiques :(Laurain-Mattar et al. 2023).**

- Autre appellation :Oranger bigarade fleurs.
- Famille : Rutacées.
- Organes producteurs :fleurs.
- Particularités botaniques :petit arbre au feuillage toujours vert dont le fruit est une baie amère et acide.
- Origine géographique : Paraguay et rives de laMéditerranée (Espagne, Maroc).
- Norme alimentaire : Afnor NF
- Norme cosmétique:*Citrus aurantium* amara leaf/twig oil (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients).
- Molécules sensibilisantes ou allergisantes (7e amendement de la directive cosmétique européenne2003/15/CE) : citral, géraniol, limonène, linalol.
- -Qualité pharmaceutique : monographie à la Pharmacopée européenne 10e édition.

### **3. 3. Les effets de Néroli bigarade :**

#### **3.3.1. Effets anxiolytiques et sur les troubles du sommeil :**

La prise orale à la dose de 0,5 à 1g/kg d'HE de Néroli bigarade a un impact au niveau du système nerveux. Elle a un effet sédatif, hypnotique (avec une augmentation du temps de sommeil induit par les barbituriques), anxiolytique et anticonvulsivant. Ces données sont en accord avec l'utilisation ethnopharmacologique de cette HE (**Laurain-Mattar et al. 2023**).

#### **3.3.2. Effet aphrodisiaque à la ménopause et diminution du syndrome prémenstruel**

L'inhalation de cette HE soulagerait les symptômes de la ménopause, augmenterait le désir sexuel et réduirait la pression artérielle. Une étude montre une amélioration significative des symptômes du syndrome prémenstruel par simple inhalation (**Laurain-Mattar et al. 2023**).

#### **3.3.3 Effet antalgique**

Des travaux suggèrent que l'HE de Néroli bigarade possède un ou des constituants biologiquement actifs (linalol, acétate de linalyle, nérolidol, E,E-farnésol,  $\alpha$ -terpinéol et limonène) ayant une activité significative contre l'inflammation, aiguë mais surtout chronique, qui ont aussi des effets antinociceptifs centraux et périphériques qui soutiennent les revendications ethnomédicales de l'utilisation de la plante dans la gestion de la douleur et de l'inflammation (**Laurain-Mattar et al. 2023**).

### **3. 4. Les Principaux usages en aromathérapie : (Laurain-Mattar et al. 2023).**

L'huile essentielle de Néroli bigarade est très polyvalente et peut s'utiliser localement pure sur la peau, y compris chez les jeunes enfants mais toujours après avoir réalisé un test cutané.

- ✓ **Toutes formes de manifestation du stress** (insomnie, agitation, irritabilité, nervosité excessive, émotivité, anxiété, angoisse, troubles de l'attention, spasmes, montée de tension, palpitations, etc.) :
  - déposer deux gouttes d'HE sur les poignets ou le plexus solaire, puis réaliser un léger massage.
  - déposer quelques gouttes sur un mouchoir, un patch ou l'oreiller.
  - réaliser une diffusion ou prendre un bain aromatique avant le coucher.
  - Associations possibles : HE de Petit grain bigarade, de Lavande officinale et d'Orange douce.
- ✓ **Problèmes cutanés infectieux (plaies risquant de s'infecter, égratignures, acné) :**
  - déposer deux gouttes d'HE pure sur la zone cutanée concernée, puis rajouter une huile végétale (millepertuis, calophylle, argan pour le visage, etc.).
- ✓ **Syndrome prémenstruel, ménopause, perte de libido féminine :**
  - placer de l'hydrolat de Néroli bigarade dans un diffuseur à vapeur d'eau qu'il est possible de faire fonctionner jusqu'à cinq fois par jour pendant deux jours.
  - déposer une goutte, seule ou associée à une goutte d'HE de Rose de Damas, sur le poignet ou sur un mouchoir et respirer jusqu'à cinq fois par jour pendant deux jours.

### ✓ **Symptômes douloureux inflammatoires :**

Cette huile essentielle peut faire partie de synergies anti-inflammatoires au long cours. Il doit cependant être conseillé de ne pas la mélanger avec des HE qui masqueraient son parfum délicat, comme celles de Gaulthérie et d'Eucalyptus citronné, mais de l'associer plutôt avec des HE également antalgiques dont les fragrances sont compatibles, telles que l'HE d'Ylang-Ylang, de Gingembre et de Lavandin super.

### **3. 5. Précautions d'emploi :**

Au cours de toutes les études cliniques, aucun effet indésirable n'a été recensé, même en cas de prise orale et/ou à fortes doses. De même, aucun effet secondaire n'est signalé aux doses habituellement recommandées. Par voie topique, l'HE de Néroli bigarade de qualité bio peut être utilisée en usage externe sur une peau aussi fragile et aussi fine que celle d'un nourrisson. Cette HE présente, par conséquent, un excellent profil de sécurité avec une tolérance très élevée et un très bon rapport bénéfice-risque (**Laurain-Mattar et al. 2023**).

## **PARTIE II**

### Partie expérimentale

# **Chapitre I**

## Matériel et Méthodes

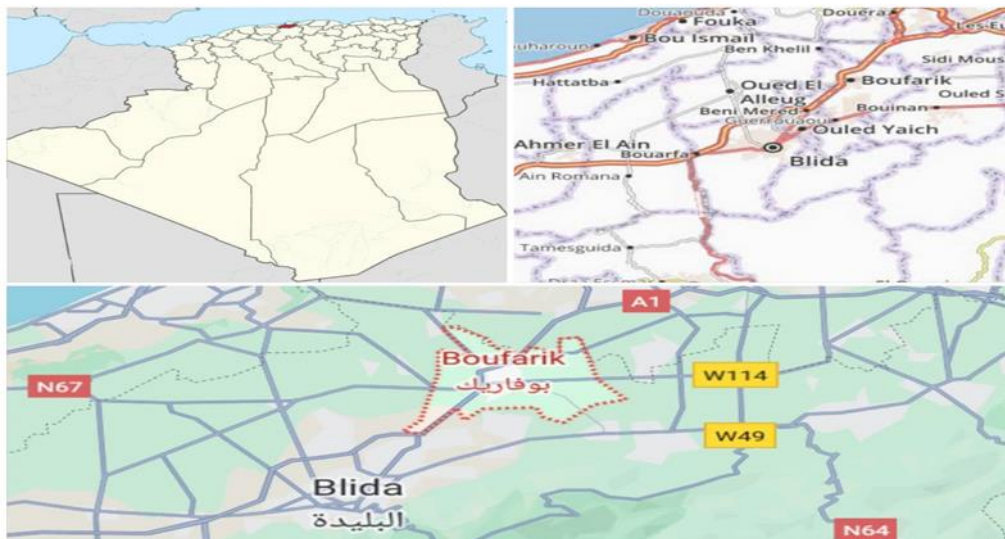
## 1. L'objectif

Notre travail met l'accent sur l'huile essentielle des fleurs de *Citrus aurantium L* (Néroli) Ce travail consiste en une étude physico-chimique, suivi d'une évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de Néroli bigarade contre trois souches bactériennes pathogènes courantes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

- Les analyses physico-chimiques sont réalisées au niveau du laboratoire de Biochimie à l'université de Khemis Miliana.
- L'activité antibactérienne a été réalisée au niveau du laboratoire d'analyse médical de Dr. Zibouche.

## 2. Site de récolte

La zone d'étude (Oued Alleug) est située dans la région de Blida à une altitude de 47 mètres au-dessus du niveau de la mer. Bordé au nord par la commune de Koléa, wilaya de Tipaza, au Sud par la wilaya de Blida et Béni Tamou, à l'Ouest par la commune de Mouzaia et Chiffa, et à l'Est par la commune de Béni Tamou. Elle possède un climat dont les étés sont courts, chauds, humides, secs et généralement clairs, tandis que les hivers sont longs, froids et partiellement nuageux. Les précipitations moyennes à Oued Alleug étaient de 31 mm, la température moyenne était de 26°C et l'humidité de 79%.



**Figure3 :** Algérie, Blida, la localisation géographique d'Oued Alleug

## 3. Matériel végétale :

L'espèce choisie pour notre travail est le *Citrus aurantium L*, ou ce qu'on appelle en arabe narnaj. C'est une plante largement utilisée dans le monde en raison de l'importance de ses parties (fleurs, feuilles, fruits, graines).

Notre étude s'articule autour des fleurs de cette espèce, source précieuse d'huile essentielle de Néroli. Ces fleurs ont été récoltées minutieusement par six ouvriers de 6h du matin jusqu'à 14h en avril 2023.



**Figure 4 :** Fleurs de *Citrus aurantium L* (original)

#### **4. Extraction de l'huile essentielle :**

Les fleurs fraîches ont été soumises à une hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger . L'extraction a été effectuée en trois exemplaires. Au cours de chaque expérience, une portion (100 g) de matière végétale a été soumise pendant 3 h (après la chute de la première goutte de distillat) à la distillation à l'eau. L'huiles essentielles obtenues ont été mesurées (rendement) et entreposées à 4 °C dans des bouteilles en verre foncé jusqu'à ce qu'elles soient testées et analysées (**Ammar et al. 2012**).

##### **4.1 Calcul du rendement :**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$R = \text{Masse d'huile essentielle} / \text{Masse de fleur fraîche} \times 100$$

**R :** rendement de l'huile en pourcentage. (**Ammar et al. 2012**).

#### **5. Caractéristiques physico-chimiques :**

La connaissance d'indices physiques et chimiques est important puis qu'elle permet de caractériser voire d'identifier une huile essentielle (**Lazouni et al. 2007**).

##### **5.1. L'indice d'acide :**

###### **Le principe :**

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans 1 g d'HE (**Amara et Boughérara. 2017**).

###### **Mode opératoire : (Djousse et al. 2022)**

Mélangez 0.5 gramme d'huile essentielle avec 5 millilitres d'éthanol à 96%, et environ 3 gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine) dans un bécher.

Ensuite, réalisez une titration en utilisant une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,1 N.

Continuez la titration jusqu'à ce que la solution prenne une couleur rose.

Noter le volume de solution de KOH utilisé.

**Calcul de l'indice d'acide : (Noudogbessi et al. 2008).**

$$I_a = (N \times v \times 56.11) / m$$

**N** = normalité d'hydroxyde de potassium

**m** = masse d'huile essentielle prélevée en g

**V** = volume de solution d'hydroxyde de potassium versée en ml

**56,11g / mol** = masse moléculaire du KOH

## **5.2. L'indice de réfraction :**

### **Le principe :**

L'indice de réfraction ( $I_r$ ) est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile maintenue à température constante (**Diakite et al. 2022**).

### **Mode opératoire :**

Afin de déterminer l'indice de réfraction, il est nécessaire de procéder en premier lieu à la mesure de l'indice de réfraction de l'eau distillée, qui doit être de 1.333 à 20°C.

Ensuite, ouvrez le prisme secondaire et déposez délicatement quelques gouttes d'huile essentielle de Nérolol à l'aide d'une seringue sur la partie centrale du prisme principal.

Refermez ensuite le prisme secondaire pour permettre à l'échantillon de s'étaler en un film très mince entre le prisme principal et le prisme secondaire.

Patientez jusqu'à ce que la température se stabilise avant d'effectuer la mesure souhaitée.

## **5.3. Le potentiel d'hydrogène (PH) :**

### **Le principe :**

Chaque huile possède un pH (potentiel d'hydrogène) spécifique. Le pH permet de déterminer le caractère acide, neutre ou basique. Le potentiel d'hydrogène donne une indication sur l'acidité d'une huile. Il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogène libre ( $H^+$ ) contenus dans l'échantillon. Il existe plusieurs différentes méthodes pour mesurer le pH (**Actu-Environnement, 2003**).

On peut tout d'abord le mesurer à l'aide d'un papier appelé papier pH qui est utilisé pour déterminer si l'huile de Nérolol est acide, basique ou neutre.

### **Mode opératoire :**

Nous avons déposé quelques gouttes d'huile essentielle de Néroli sur une portion de papier pH, et après que le papier ait changé de couleur

On observe la couleur qui apparaît sur la bandelette et on compare la couleur de la bandelette avec une gamme de couleurs qui varient selon le PH.

### **6. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de Néroli bigarade *Citrus aurantium L* :**

#### ➤ **Souches bactériennes utilisées :**

- ATCC American type culture collection

**Tableau 2 :** Souches bactériennes utilisées

Souche	Code	Gramme
<i>Escherichia coli</i>	<b>ATCC 25922</b>	<b>Négative</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>ATCC 27853</b>	<b>Négative</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>ATCC 25923</b>	<b>Positive</b>

#### ➤ **Les Milieux de culture :**

Le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne est l'agar de Muller Hinton (AMH) qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (**Bouguerra et al. 2014**).

#### ➤ **Préparation du milieu Muller-Hinton**

Le milieu d'agar Mueller Hinton (tableau 2) a été préparé dans une fiole conique en dissolvant 38 g de milieu d'agar en poudre dans 1 L d'eau distillée. Le flacon a été chauffé à flamme nue pour dissoudre complètement le milieu, puis stérilisé dans un autoclave à 121 °C pendant 15 minutes (**Khalid et al. 2011**).

#### ➤ **Préparation des suspensions bactériennes (inoculum) :**

À l'aide d'une pipette Pasteur, une ou deux colonies bien isolées sont prélevées et mises dans 2 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée.

#### ➤ **Ensemencement :**

On trempe un écouvillon de coton dans la suspension, qui est pressé fermement contre la paroi intérieure du tube, juste au-dessus du niveau du liquide et tourné afin d'enlever les liquides excédentaires. Le prélèvement est ensuite étalé à l'aide de l'écouvillon à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte d'environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum (**Aouni et al. 2013**).

### **6.1. Etude de la sensibilité des souches bactérienne vis-à-vis des antibiotiques (L'antibiogramme) :**

La technique utilisée est la méthode de diffusion sur milieu gélosé, le milieu de culture Muller Hinton coulé en boîtes de pétri est ensemencé par écouvillonnage avec la suspension bactérienne.

Des disques d'antibiotique sont placés sur le milieu de culture à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de pétri ont été fermés, et maintenues à la température du laboratoire pendant 30 min afin de laisser diffuser, avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h.

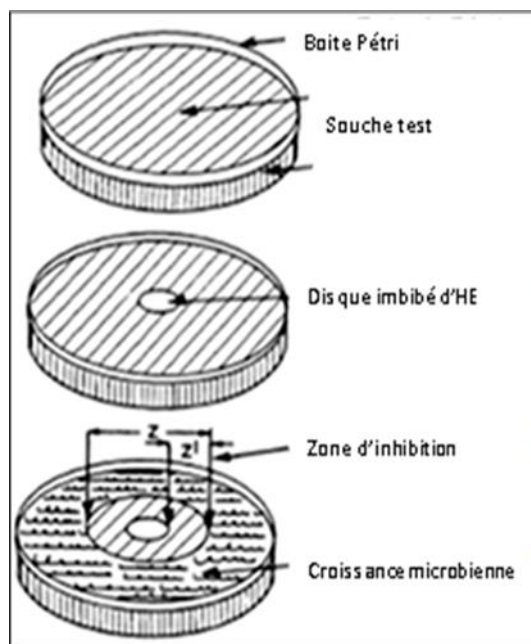
Les différents antibiotiques testés sont présentés dans le **tableau 3**

**Tableau 3 : la liste des antibiotiques utilisés**

<b>Antibiotique</b>	<b>Sigle</b>	<b>Charge du disque</b>
Oxacilline	OX	1µg
Nétilimicine	N	30µg
Céfoxitine	Cx	30µg
Acide fusidique	FC	10µg
Ticarcilline +C	TTC)	85µg
Ticarciline	TIC	75µg
Pénicilline	PI	20µg

### **6.2. Etude de la sensibilité des souches bactérienne vis-à-vis de l'huile de Néroli (L'aromatogramme) :**

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier buvard de 6mm de diamètre, préalablement imprégnés de quantités connues d'huile essentielle (07µl), sont alors placés en surface de la gélose. Généralement, les microorganismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition (**Boutabia et al. 2016**).



**Figure 5 :** Principe de la méthode d'aromatogramme (Boukhatem et al. 2014).

➤ **Préparation des dilutions :**

Pour préparer les dilutions nous avons besoin 4 tubes eppendorfs stériles (huile essentielle, 1/2 ,1/4,1/8) :

Le premier contient 200 µl d'huile essentielle de Néroli pure (1/1). Le deuxième tube contient 100 µl du premier tube et 100 µl de solvant DMSO et homogénéiser bien pour obtenir la dilution (1/2). Répétez cette procédure pour chaque dilution suivante jusqu'à obtenir la dilution (1/8).

➤ **Placement des disques sur la gélose :**

Pour chaque souche bactérienne nous avons utilisé quatre boites et chaque boite contient un seul disque :

- la première boite contient le disque imprégné par l'huile pure
- la deuxième boite contient le disque imprégné par la dilution 1/2
- la troisième boite contient le disque imprégné par la dilution 1/4
- la quatrième boite contient le disque imprégné par la dilution 1/8

Cette opération est répéter trois fois.

➤ **Incubation**

Les boîtes de Pétri qui contiennent les souches des bactéries sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

# **Chapitre II**

## **Résultats et discussion**



## **Chapitre 3**

### **Conclusion et perspectives**

**Conclusion :**

Les plantes aromatiques et médicinales sont d'une vaste importance thérapeutique et économique, leur utilisation par l'homme à des fins thérapeutiques et alimentaires remonte à l'antiquité. Aujourd'hui, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales ont de nombreuses applications dans divers domaines, tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétique et l'agroalimentaire.

Parmi ces plantes l'oranger amer ou bien *Citrus aurantium* L qui appartenant à la famille des Rutaceae, a retenu notre attention. et plus particulièrement son huile essentielle extraite de ses fleurs, qui connue sous le nom de Néroli bigarade, notre étude a porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de cette huile essentielle, en examinant son effet sur trois souches pathogènes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

L'ensemble des résultats obtenus permis de constater les points suivants :

## Références Bibliographiques

- Actu-EnvironnementT, (2003). Reproduction interdite sauf accord de l'editeur ISSN N°2107-6677(consulte le 31/05/2022).
- Agarwal, P., Z. Sebghatollahi, et al. (2022). "Citrus essential oils in aromatherapy: Therapeutic effects and mechanisms." *Antioxydants*11(12): 2374.
- Allais, D. (2009). "Phytothérapie: L'oranger amer ou bigaradier." *Actualités Pharmaceutiques*(488): 47-49.
- Amara, N. and Y. Boughérara (2017). "Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprès Vert (*Cupressus sempervirens* L.)" *Algerian Journal of Natural Products*5(2): 455-462.
- Ammar, A. H., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Romdhane, M., & Zagrouba, F. (2012). Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil (Neroli oil). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(21), pp-1034.
- Anwar, S., N. Ahmed, et al. (2016). Bitter orange (*Citrus aurantium* L.) oils. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, Elsevier: 259-268.
- Aouni, M., F. Pelen, et al. (2013). "Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application." *Phytothérapie*11(4): 225-236.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 1(10), 2-9.
- Bonaccorsi, I., D. Sciarrone, et al. (2011). "Composition of Egyptian neroli oil." *Natural Product Communications*6(7): 1934578X1100600723.
- Bouguerra, A., L. Himed, et al. (2014). "Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des écorces de *Citrus reticulata*." 03: 32-39.
- Boukhatem, M. N., M. A. Ferhat, et al. (2014). "Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse [Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy]." *International Journal of Innovation and Applied Studies*8(4): 1418.
- Boutabia, L., S. Telailia, et al. (2016). "Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. De la région de Hammamet (Tébessa-Algérie)." *Bulletin de la Societe Royale des Sciences de Liege*85: 174-189.
- Bouyahya, A., Y. Bakri, et al. (2017). "Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries." *Phytothérapie*.
- Cheurfa, M., R. Allem, et al. (2013). "Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites." *Phytothérapie*11(3): 154-160.

- Coulibaly, A., Hema, D. M., Sawadogo, I., Toe, M., Kiendrebeogo, M., & Nébié, R. C. (2023). Physico-chemical properties of *Ocimum americanum* L. essential oil from Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(2), 701-709.
- Diakite, K., S. Diagouraga, et al. (2022). "Etude des paramètres physico-chimiques des huiles de graine de coton produites en zone CMDT au Mali: Study of the physicochemical parameters of cottonseed oils produced in the CMDT zone in Mali." *International Journal of Biological and Chemical Sciences*16(3): 1320-1330.
- Djousse, B. M. K., N. F. Ngoune, et al. (2022). "Extraction et caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques cultivées à l'Ouest-Cameroun: *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Cymbopogon citratus*." *Cameroon J Biological and Biochemical Sciences*30(2): 121-133.
- Ellouze, I., H. Debbabi, et al. (2011). "Variation in physicochemical and sensory quality of sour orange (*Citrus aurantium* L.) marmalade from the Cap Bon region in North-East Tunisia." *Fruits*66(5): 315-325.
- Ersus, S. and M. Cam (2007). "Determination of organic acids, total phenolic content, and antioxidant capacity of sour *Citrus aurantium* fruits." *Chemistry of Natural Compounds*43(5).
- Ghédira, K. and P. Goetz (2015). "*Citrus aurantium* L. var. *amara* Link." *Phytothérapie*13(5): 320-327.
- Ghédira, K. and P. Goetz (2015). "*Citrus aurantium* L. var. *amara* Link Oranger amer – Bigaradier (Rutaceae)." *Phytothérapie*13(5): 320-327.
- Goossens, H., M. Ferech, et al. (2005). "Outpatient Antibiotic Use in Europe and Association with Resistance: A Cross-National Database Study." *The Lancet*365: 579-587.
- Govindaraj, S. (2019). "Extraction and Therapeutic Potential of Essential Oils: A Review." *The Therapeutic Properties of Medicinal Plants*: 73-102.
- Hamid, A., O. Aiyelaagbe, et al. (2011). "Essential oils: Its medicinal and pharmacological uses." *Int J Curr Res*33.
- Hemaiswarya, S., A. K. Kruthiventi, et al. (2008). "Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases." *Phytomedicine*15(8): 639-652.
- HIMED, L., MERNIZ, S., & BARKAT, M. (2016). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation. *Alger. J. Nat. Prod.*, 4(1), 252-260.
- Hussain, S., B. Naseer, et al. (2021). *Mulberry (M. rubra)—Morphology, Taxonomy, Composition and Health Benefits*: 305-315.
- Iserin, P. (1997). *Encyclopédie des plantes médicinales*, Larousse.
- Jha, V., A. Risbud, et al. (2022). "GC–MS analysis and investigation of bioactive potential of essential oil from *Citrus aurantium* var. *Amara*." *Int J Pharm Chem*8(3): 29-39.

- Karabiyikli, Ş., Değirmenci, H., & Karapınar, M. (2014). Inhibitory effect of sour orange (*Citrus aurantium*) juice on *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 421-425. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.037>
- Karima, B. and K. E. Makhoulf (2021). "Evaluation of the antifungal activity of bitter orange (*Citrus aurantium* L.) essential oil." Vol. 15: 218-227.
- Karoui, I. J., W. A. Wannes, et al. (2010). "Refined corn oil aromatization by *Citrus aurantium* peel essential oil." *Industrial Crops and Products*32(3): 202-207.
- Karthikeyan, V. and J. Karthikeyan (2014). "*Citrus aurantium* (bitter orange): A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology." *International journal of drug discovery and herbal research*4(4): 766-772.
- Khalid, A., U. Urrehman, et al. (2011). "Antimicrobial activity analysis of extracts of *Acacia modesta*, *Artemisia absinthium*, *Nigella sativa* and *Saussurea lappa* against Gram positive and Gram negative microorganisms." *African Journal of Biotechnology*10: 4574-4580.
- Laurain-Mattar, D., F. Couic-Marinié, et al. (2023). "L'huile essentielle de Néroli bigarade." *Actualités Pharmaceutiques*62(627): 53-56.  
L'huile essentielle (HE) de Néroli bigarade entre dans la composition de nombreux parfums. Elle a fait l'objet d'études scientifiques qui ont attesté de ses nombreuses propriétés liées à sa richesse en linalol et en acétate de linalyle. Sa toxicité quasiment nulle en fait une HE dont l'usage est extrêmement sécuritaire.
- Lazouni, H., A. Benmansour, et al. (2007). "COMPOSITION DES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES ET VALEURS NUTRITIVES DU *Foeniculum vulgare* Mill." *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*: 7-12.
- Lego, N., A. Shadap, et al. (2023). ESSENTIAL OILS AND THE METHODS OF EXTRACTION.
- Maidi, L. and M. Dahia "Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L.(Lamiaceae) de la région d'El Assafia (W. de Laghouat) Algérie."
- Maksoud, S., R. M. Abdel-Massih, et al. (2021). "*Citrus aurantium* L. active constituents, biological effects and extraction methods. an updated review." *Molecules*26(19): 5832.
- Maksoud, S., A.-M. Roula, et al. (2021). "*Citrus aurantium* L. Active Constituents, Biological Effects and Extraction Methods. An Updated Review." *Molecules*26: 5832.
- Nguyen, H., E. M. Campi, et al. (2009). "Effect of oxidative deterioration on flavour and aroma components of lemon oil." *Food Chemistry*112(2): 388-393.
- Norme internationale.ISO 3 517. Huile essentielle de néroli bigaradier (*Citrus aurantium* L., syn. *Citrus amara* Link, syn. *Citrus bigaradia* Loisel, syn. *Citrus vulgaris* Risso).

- Noudogbessi, J.-P., D. Kossou, et al. (2008). "Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Pimenta racemosa* (Miller) et de *Chromolaena odorata* (L. Robinson) Acclimatées au Bénin." *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*26: 11-19.
- Ogunro, O. B., G. Richard, et al. (2023). *Citrus aurantium: Phytochemistry, Therapeutic Potential, Safety Considerations, and Research Needs. Herbal Medicine Phytochemistry: Applications and Trends, Springer: 1-40.*
- Shankar, S., S. Prasad, et al. (2021). "Essential oils, components and their applications: A review." *Plant Archives*21(1): 2027-2033.
- Souiy, Z. (2023). *Essential Oil Extraction Process.*
- Suntar, I., Khan, H., Patel, S., Celano, R., & Rastrelli, L. (2018). An overview on *Citrus aurantium* L.: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018(1), 7864269.
- Teshome, E., S. F. Forsido, et al. (2022). "Potentials of natural preservatives to enhance food safety and shelf life: A review." *The Scientific World Journal*2022.
- Trabelsi, D., A. Haj Ammar, et al. (2014). "Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils and Methanolic Extracts of Tunisian *Citrus aurantium* L." *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*8: 18-27.
- Zhang, C., P. Bucheli, et al. (2007). "Citrus flavonoids as functional ingredients and their role in traditional Chinese medicine." *Food*1(2): 287-296.