



Type of the Paper (Article)

Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation

Louiza HIMED^{1,*}, Salah MERNIZ^{2,3}, Malika BARKAT¹

¹ Laboratoire de Biotechnologie et Qualité des Aliments (BIOQUAL), INATAA, Université des frères Mentouri Constantine. 25000 Constantine, Algérie

² Centre de Recherches Scientifiques et Techniques en Analyses Physico-chimiques (CRAPC), BP 248, Alger RP 16004, Alger, Algeria.

³ Laboratoire de Physicochimie Analytique et Cristallographie de Matériaux Organométalliques et Biomoléculaires, Université des frères Mentouri Constantine, 25000 Constantine, Algérie

* E-Mail: himed.louiza@hotmail.fr ;

Tel.: + 213 31 66 18 83 ; Fax: +213 31 66 18 84

Received: 16/01/2016

/Accepted: 02/03/2016

Abstract: La présente étude porte sur l'évaluation des propriétés antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus limon* (Lisbon) extraite par hydrodistillation et analysée par GC-MS. Le pouvoir antioxydant est évalué par le test au DPPH et le test de blanchissement du β -carotène. L'activité antibactérienne vis-à-vis de neuf souches bactériennes (deux à Gram positif et sept à Gram négatif) est évaluée par la méthode des aromatogrammes et la méthode de dilution d'agar pour déterminer les CMI. L'extraction a donné un rendement moyen de $1,34 \pm 0,012\%$. Cette huile essentielle a montré des propriétés antioxydante et antibactérienne importantes. La concentration efficace qui réduit 50 % du DPPH en solution est de $0,09 \pm 0,001 \mu\text{g/ml}$ qui exprime une activité antioxydante plus importante que celle de α -tocopherol, ce résultat a été confirmé par le test de blanchissement du β -carotène. Les bactéries testées ont montré une sensibilité à l'huile essentielle. Ces activités sont liées à la richesse de l'huile essentielle en monoterpènes (81,01%).

Keywords: huile essentielle, *Citrus limon*, variété Lisbon, activité antioxydante, activité antibactérienne

I. Introduction

Au cours de ces dernières années, l'augmentation de la demande du consommateur pour des produits naturels sans conservateurs a conduit l'industrie agroalimentaire à envisager l'incorporation de substances naturelles.

Ainsi, les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme antioxydants, antimicrobiens et donc comme conservateur naturel qui préserve l'aliment des différentes altérations oxydatives ou microbiennes [1].

Le citron est parmi les fruits les plus connus, cultivé aujourd'hui dans toutes les régions méditerranéennes. En industrie alimentaire, le citron est utilisé pour plusieurs applications ; dans la fabrication de son jus par exemple, l'écorce est éliminée complètement en constituant les déchets, en effet ces derniers peuvent être considérés comme un sous-produit qui est caractérisé par sa richesse en huile essentielle [2].

L'huile essentielle du citron sert à la fabrication d'arômes alimentaires, d'essences fruitées, de boissons rafraîchissantes, de liqueurs, de pâtisseries et de confiseries [2].

C'est dans cette optique que se situe notre étude, qui se focalise sur la valorisation des sous-produits (zestes) d'agrumes par extraction de leurs huiles essentielles et l'évaluation de leurs activités antioxydante et antibactérienne.

II. Experimental Section

II.1.Extraction de l'huile essentielle

L'extraction d l'huile essentielle à partir du zeste frais de citron de la variété Lisbon (récolté le mois de mai 2014 dans la region de Takariet wilaya de béjaia) est effectuée par hydrodistillation (qui donne un rendement meilleur par rapport à l'extraction par pression à froid [3]). L'huile ainsi extraite est conservé dans des flacons opaques à 4°C.

II.2.Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

L'huile essentielle de *Citrus limon* a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de type Hewlett-Packard GC-MS System (GC : 6800, MSD : 5973) en utilisant une colonne de silice capillaire fondue avec différentes phases stationnaires ; HP5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm d'épaisseur de film). Les spectres GC-MS ont été obtenus en utilisant les conditions suivantes: gaz vecteur Hélium avec un débit de 0,5 ml/min; mode d'injection split; volume d'injection est de 0,2 µl; température d'injection est de 250°C; un programme de température du four est de 60°C pendant 8 min puis augmentée de 2°C /min jusqu'à 250°C et maintenu à 250°C pendant 10 min; le mode d'ionisation utilisé a été l'impact électronique à 70 eV.

La plupart des constituants ont été provisoirement identifiés par comparaison de leurs indices de rétention GC Kovats (I), déterminés en référence à une série homologue de C₅-C₂₈ n-alcanes. L'identification a été confirmée lorsque cela est possible par comparaison de leurs spectres avec ceux de la base de données MS (Wiley 2007) et avec les données de la littérature [4, 5].

II.3.Test de mesure du pouvoir antioxydant

La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle extraite a été réalisée par deux tests chimiques : la mesure du pouvoir réducteur par le radical libre DPPH (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl) et la dégradation du β-carotène en présence de l'acide linoléique.

II.3.1.Test au DPPH

L'activité antioxydante a été mesurée par la méthode DPPH (1,1-diphényle-2- picrylhydrazyl) selon le protocole décrit par Archana *et al.* (2005) [6]. 100µl de l'échantillon à tester a été ajouté à 2,9ml de solution méthanolique DPPH (4 v/v). Après agitation par un vortex, le mélange a été laissé à l'obscurité pendant 30 min et la densité optique a été mesurée avec un spectrophotometer UV-VIS (JENWAY 7305 Spectrophotometer: 42722) à 517 nm. Le contrôle négatif contient uniquement la solution de DPPH et le contrôle positif est représenté par des solutions d'antioxydant de référence ; α-tocophérol dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test. L'activité antioxydante est estimée en pourcentage d'inhibition ou pourcentage d'activité antioxydante, selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \frac{(\text{Abs}_{\text{control négatif}} - \text{Abs}_{\text{test}}) / (\text{Abs}_{\text{control négatif}})}{\times 100}$$

Où Abs est l'absorbance à la longueur d'onde de 517 nm. Pour obtenir la concentration efficace (CE); différentes concentrations de l'échantillon à tester et de l'antioxydant de référence (0–1000 mg/ml) ont été préparées.

II.3.2.Test de blanchissement du β-carotène

Selon Kartal *et al.* (2007) [7], 0,5 mg de β-carotène sont dissous dans 1ml de chloroforme et additionnés à 200 mg de Tween 40 et 25 µl d'acide linoléique. Cette solution est évaporée jusqu'à disparition de l'odeur du chloroforme, par la suite 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène sont

ajoutés et l'émulsion résultante est agitée vigoureusement. 350µl de l'huile essentielle ou de l'antioxydant de référence (α-tocophérol) solubilisée dans du méthanol (2 mg/ml) sont additionnés à 2,5 ml de l'émulsion précédente. La décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans lequel l'échantillon est remplacé par 350µl de méthanol) est mesurée à 490 nm par spectrophotométrie après 48 heures. Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante:

$$\text{Inhibition (\%)} = (\text{Abs}_{t=48h} / \text{Abs}_{t=0}) \times 100$$

Où $\text{Abs}_{t=0}$: absorbance initiale lue à 490nm de l'échantillon.

$\text{Abs}_{t=48h}$: absorbance lue à 490nm après 48h de l'échantillon.

II.4. Test de mesure du pouvoir antibactérien

II.4.1. Origine et choix des souches bactériennes

Les souches bactériennes choisies sont impliquées fréquemment dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires, nous avons sélectionné deux groupes de bactéries :

- Bactéries à Gram négatif (-) : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, et *Proteus mirabilis*.
- Bactéries à Gram positif (+) : (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213)

Ces souches nous ont été fournies par le service de Microbiologie du centre hospitalo universitaire de Constantine.

II.4.2. Test de l'activité antibactérienne par la méthode des aromatogrammes

La méthode de diffusion des disques appliquée sur milieu gélosé est celle décrite par Mayachiew et Devahastin (2008) [8]. Le principe de la méthode repose sur l'inhibition de la croissance microbienne dans la boîte de Pétri après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. En surfusion, 20ml de l'agar de Muller Hinton sont coulés dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu de culture, 100µl de la suspension bactérienne à tester (10^8 CFU.ml⁻¹) sont étalés en surface. Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman N°40 (6mm de diamètre) sont déposés sur l'agar, précédemment inoculé avec le microorganisme choisi, puis les imbibés par 5µl d'huile essentielle à tester. Les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 1h pour que l'huile essentielle puisse diffuser puis incubées à 37°C pendant 24h.

L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de résistante (-) pour les diamètres moins de 8mm ; sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm ; très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

II.4.3. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB)

L'utilisation des huiles essentielles dans les produits alimentaires est souvent limitée par leurs effets indésirables (odeur forte, changement de goût) qu'elles peuvent engendrer dans l'aliment. Pour cette raison, il est nécessaire de déterminer la CMI (la concentration minimale inhibitrice) de l'huile essentielle capable d'inhiber la croissance de bactéries sans altérer les caractéristiques organoleptiques de l'aliment [9].

Les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) sont estimées par la méthode de dilution d'agar. Cette méthode nous permet également de connaître la nature de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (bactériostatique ou bactéricide).

Pour pouvoir obtenir différentes concentrations de l'huile essentielle (1000 µl/mg à 10µl/mg avec une marge de 10µl/mg), nous l'avons diluée dans le DMSO (diméthylsulfoxyde). Le DMSO est le solvant qui n'a prouvé aucun pouvoir antibactérien puissant [10].

Un volume de 19ml d'AMH fondus, additionnés de 0.5% (v/v) tween 80, ont été mis dans un tube à essai en lui rajoutant, aseptiquement, 1ml de chaque concentration d'huile essentielle.

Le mélange (différentes concentrations de l'huile essentielle+AMH+tween 80) est immédiatement coulé dans des boîtes de Pétri. Après solidification de la gélose, les boîtes de Pétri sont partagées en neuf parties dans les quelles sont mises les neuf souches bactériennes, sous forme de dépôts de 1µl contenant 10^{+5} UFC. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

Des témoins sont réalisés pour chaque souche. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

La CMI représente la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'oeil nu après 24 heures d'incubation à 37°C [11]. Par ailleurs, la CMB représente la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'oeil nu après 5jours d'incubation à 37°C [8].

Le rapport CMB/CMI nous a permis de déterminer les pouvoirs bactéricide et bactériostatique de l'huile essentielle étudiée. Lorsque ce rapport est supérieur à 4, l'huile essentielle a un pouvoir bactériostatique, et bactéricide quand il est inférieur ou égal à 4 [12].

II.5. Etude statistique

Toutes les expériences ont été réalisées en triplicat et les résultats ont été exprimés en moyenne \pm l'écart type. L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique XLSTAT V.7.1. en utilisant le test de Student et l'analyse de la variance (ANOVA) a un seule facteur. Les différences ont été considérées significatives au seuil de probabilité de 5 % ($p < 0,05$). La détermination de la concentration efficace (CE_{50}) a été effectuée en traçant la courbe du pourcentage de l'inhibition en fonction des concentrations.

III. Results and Discussion

III.1. Rendement d'extraction en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle de *Citrus limon* de la variété Lisbon, extraite par hydrodistillation est de 1, 34 \pm 0,012%. Jeannot et *al.* et Fuselli et *al.* [13, 14] ont observé des rendements allant de 0,7 à 0,9 % pour l'huile essentielle du citron. Cependant, Rega et *al.* [15] ont rapporté que les rendements en huile essentielle chez les *Citrus* diffèrent selon l'espèce et contre toute attente ont signalé des rendements de 1 à 3%. Himed et Barkat [3] ont observé un rendement de 2,18 \pm 0,04% pour l'huile essentielle de *Citrus limon* de la variété Euréka extraite par le même procédé, dans la même region et récoltée dans la même période. A 0,05 nous avons remarqué une différence significative entre les deux rendements. On peut en déduire que la variété a une influence sur le rendement.

III.2. Analyse de l'huile essentielle

La caractérisation de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon) a été réalisée par GC-MS, 21 composants ont été séparés et identifiés (Tableau 1).

L'identification des composants a montré que l'huile essentielle de *Citrus limon* (Lisbon) a un taux élevé en Limonène (64,19%) suivi par β -Pinene (7,76%), α -Terpinene (5,45%) et Geranial (3,65%). Le composé majoritaire est le limonène, selon [16], sa concentration dans les huiles essentielles des *Citrus* varie de 32- 98% en dependant de la variété : 32-45% dans les bergamots, 45-76% dans le citron et 68-98% dans les oranges.

Tableau 1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation

N°	temps de retention (min)	Composés	Surface %	I
1	10,247	α-Thujene	0,31	931,196
2	10,650	α- Pinene	1,52	938,610
3	13,438	β-Pinene	7,76	981,766
4	14,433	β-Myrcene	1,64	995,024
5	17,742	Limonène	64,19	1045,348
6	19,359	α-Terpinene	5,45	1067,373
7	22,638	α-Terpinolene	0,45	1109,546
8	24,567	Cis -Limonene oxide	0,66	1138,187
9	24,929	Trans -Limonene oxide	0,63	1143,310
10	29,272	α-Terpineol	1,01	1199,558
11	32,570	Cis-Citral	2,69	1249,266
12	34,726	Geranial	3,65	1279,198
13	40,330	Piperitenone oxide	0,57	1361,643
14	40,711	Neryl Acetate	1,04	1361,966
15	41,955	β-Elemene	0,69	1386,005
16	44,018	Trans-Caryophyllen	0,15	1419,302
17	45,061	Trans -α- Bergamotene	0,74	1434,482
18	49,700	γ-Cadinene	1,04	1510
19	50,938	Myristicine	1,17	1532,083
20	54,113	Caryophyllene oxide	0,67	1584,603
21	99,222	Citronellyl Acetate	2,48	2552,941

III.3. Activité antioxydante et antiradicalaire

Le tableau 2 présente les concentrations efficaces de l'huile essentielle et d'α-tocophérol qui causent la réduction de 50% du DPPH°, ainsi que le pourcentage de l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique (%).

Comme figurant dans le tableau 2, l'huile essentielle extraite possède une capacité de neutralisation de DPPH° puissante en comparaison avec celle de l'α-tocophérol, qui sont respectivement 0,09±0,001 µg/ml et 0,138±0,002 µg/ml.

Tableau 2. Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon)

	Huile essentielle	α-tocopherol
CE₅₀ (µg/ml)	0,09±0,001	0,138±0,002
Inhibition-de l'oxydation de l'acide linoléique (%)	55,338±0,002	26,94±0,004

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β-carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire [17]. Selon plusieurs auteurs, le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β-carotène, paraît très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques [18]. Les résultats signalés dans le tableau 2 confirment les résultats précédents du test de neutralisation de DPPH° concernant l'activité antioxydante de l'huile essentielle extraite qui est importante par rapport à celle de l'α-tocophérol.

Cette activité qui est attribuée à l'huile essentielle extraite de *Citrus limon*, semble être liée à sa composition. Wei et Shibamoto [19] ont remarqué une activité antioxydante importante des huiles essentielles riche en monoterpènes (71,95%) (limonene α- et β-pinene) et en sesquiterpène (2,57%) (trans-caryophyllene, β-Elemene, Caryophyllene oxide et γ-Cadinene).

III.4. Activité antibactérienne

III.4.1. Test de sensibilité

La méthode de diffusion en disques (Aromatogramme) sur milieu gelosé, nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *Citrus limon* (Lisbon) vis-à-vis des souches bactériennes testées, la sensibilité des souches est classée selon l'échelle de Ponce et *al.*, [20] et les diamètres des zones d'inhibition (y compris le diamètre des disques) sont indiquées dans le tableau 3.

Tableau 3. Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon)

Souches testées	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité (Ponce et <i>al.</i> , [20])
<i>Bacillus cereus</i>	15 ± 1,41	Très sensible
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	13,33 ± 1,52	Sensible
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9,5 ± 0,1	Sensible
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8,8 ± 0,26	Sensible
<i>Salmonella enterica</i>	8,13 ± 0,32	Sensible
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,3 ± 0,36	Sensible
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9,2 ± 0,2	Sensible
<i>Serratia marcescens</i>	11,4 ± 0,26	Sensible
<i>Proteus mirabilis</i>	9,8 ± 0,52	Sensible

D'après le tableau 3, nous constatons que les souches bactériennes testées sont sensibles vis-à-vis de l'huile essentielle étudiée, nous constatons aussi que les souches Gram positif (*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) sont les souches les plus sensibles par rapport aux souches Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*). Cela est dû à la structure des bactéries Gram- qui comporte une membrane lipopolysaccharidique qui est considérée comme une barrière aux composés hydrophobe [21].

III.4.2. Evaluation des concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Avant d'utiliser une molécule antibactérienne comme conservateur dans un aliment, la concentration minimale inhibitrice (CMI) doit être estimée. Il est intolérable quand les doses antibactériennes efficaces dépassent les niveaux acceptables organoleptiques. Par conséquent, ces concentrations sont déterminées dans le but de définir les frontières de l'acceptabilité sensorielle et l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles [22].

La CMI représente la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'œil nu après 24 heures d'incubation à 37°C [11, 23]. Par ailleurs, la CMB représente la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'œil nu après 5 jours d'incubation à 37°C [8].

Le rapport CMB/CMI nous a permis de déterminer les pouvoirs bactéricide et bactériostatique de l'huile essentielle étudiée. Lorsque ce rapport est supérieur à 4, l'huile essentielle a un pouvoir bactériostatique, et bactéricide quand il est inférieur ou égal à 4 [12].

Les valeurs de CMI, de CMB de l'huile essentielle extraite de zeste du *Citrus limon* (variété Lisbon) et le rapport CMB/CMI sont présentées dans le tableau 4.

Tableau 4. Concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon)

Souches testées	CMI ($\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$)	CMB ($\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$)	CMB / CMI
<i>Bacillus cereus</i>	300	300	1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	240	300	1,25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	500	700	1,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	500	500	1
<i>Salmonella enterica</i>	910	1000	1,09
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	650	650	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	400	900	2,25
<i>Serratia marcescens</i>	700	900	1,28
<i>Proteus mirabilis</i>	640	800	1,25

En se référant au tableau 4, nous constatons que toutes les souches ont été inhibées totalement à $1\ 000\ \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus mirabilis* sont les souches ayant une grande résistance par rapport aux autres souches testées (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213). Nous constatons aussi que les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Bacillus cereus*) sont les plus sensibles à l'huile essentielle étudiée par rapport aux bactéries Gram négatif avec des CMI de $240\ \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ et $300\ \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ respectivement.

Après 5 jours d'incubation, quelques souches ont repris la croissance. C'est le cas d'*Enterobacter aerogenes* et de *Serratia marcescens*, qui ont été inhibées aux concentrations 400 et $700\ \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ respectivement après 24 heures d'incubation, et ont résisté à ces concentrations après 5 jours d'incubation.

D'après nos résultats, le rapport CMB/CMI est inférieur à 4, donc, en se référant à Canillac et Mourey [12], l'huile essentielle étudiée a un pouvoir bactéricide vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Il est bien connu que l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est attribuée généralement aux monoterpènes ([24, 25]) qui sont présents dans l'huile de *Citrus limon* testée avec un taux majoritaire (81,01%).

IV. Conclusion

Ce travail s'est concentré sur la valorisation de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon). Son extraction par hydrodistillation a donné un rendement moyen de $1,34 \pm 0,012\%$. Cette huile a fait l'objet de l'évaluation de son activité antioxydante et antibactérienne vis-à-vis de neuf souches bactériennes (deux souches Gram positif et sept souches Gram négatif) ainsi que de l'analyse de ses composants par GC-MS. Cette dernière, nous a permis d'identifier 21 composants qui sont représentés par les monoterpènes (81,01%) et les sesquiterpènes (1,73%).

L'huile essentielle extraite a montré une bonne activité antioxydante par comparaison à celle du témoin positif (α -tocopherol) et une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des neuf souches testées.

Remerciements

Nous remercions le staff du laboratoire BIOQUAL de l'INATAA de l'université de Constantine.

V. References

- [1] Dung N.T., Kim J.M. et Kang S.C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology* 46: (2008).3632-3639.
- [2] Robert A. et Lobstein A. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, (2005) 522 p.
- [3] Himed L. et Barkat M.. Élaboration d'une nouvelle margarine additionnée des huiles essentielles de *Citrus limon*. Oilseeds Fats Crops and Lipids (OCL). (2014) A102
- [4] Adams, R.P. Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. *eu-meditarrena* Lebr.& Thiv. and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss.) Parl. *Journal of Essential Oil Research*, 8 (1996) 367–371.
- [5] AFNOR. Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6^{ième} édition. AFNOR, Paris.Arctander, (2000) 1994
- [6] Archana B., Dasgupta N. and De B., 2005. *In vitro* study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem.* 90, pp. 727-733.
- [7] Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M. et Sokmen A. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*.100 (2007) 584–589.
- [8] Mayachiew P. et Devahastin S. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41 (2008) 1153-1159.
- [9] Caillet S. et Lacroix M. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). (2007) 1-8.
- [10] Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.
- [11] Bassole H.N., Kabore Z. and Traore A.S., 2002. Étude des profils bactériostatiques et bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués dans la contamination des denrées alimentaires d'origine animale. *Pharm. Med.trad.afr*, Vol.11, pp. 113-122.
- [12] Canillac N. et Mourey A.,. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol.* 18 (2001) 261-268.
- [13] Jeannot V., Chahbol N, J., Russell D. et Baret, P. Quantification and determination of chemical composition of essential oil extracted from natural orange blossom water (*Citrus aurantium* L. ssp. *aurantium*). *International Journal of Aromatherapy*, 15 (2), (2005) 94-97.
- [14] Fuselli R., Susana B., Garcia D.L.R., Martin J. et Rosalia F. Chemical composition and antimicrobial activity of citrus essences on honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24 (2008) 2067-2072.
- [15] Rega B., Fournier N., Guichard E. et Russell R. Citrus flavor *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2003) 117-133.
- [16] Moufida, S., et Marzouk, B. (2003). Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*, 62(8), 1283e1289.
- [17] Liyana-Pathirana C.M. et Shahidi F. Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86 (2006) 477-485.
- [18] Ferreria A., Proenca C., Serralheiro M.L.M. et Araujo M.E.M. The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*. 108 (2006) 31-37.
- [19] Wei A., Shibamoto T. Antioxidant activities and volatile constituents of essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 54 (2007) 1737–1742.
- [20] Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. et Roura S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*36 (2003)679-684.
- [21] Inouye, S., Yamaguchi, H., Takizawa, T., 2001. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *J. Infect. Chemother.* 7 (4), 251–254.
- [22] Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Bourke P. et Cullen P. J. Application of natural antimicrobials for food preservation. *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 5987–6000.
- [23] De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. et Marquier P. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Revue hygiène*. Edition ??,3 (2002) 248-254.
- [24] Burt, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), (2004). 223–253.
- [25] Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., et Cliver, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21 (2010) 1199–1218.

Please cite this Article as:

Louiza HIMED, Salah MERNIZ, Malika BARKAT, Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation, **Algerian J. Nat. Products**, 4:1 (2016) 252-260.

www.univ-bejaia.dz/ajnp

Online ISSN: 2353-0391

Editor in chief: Prof. Kamel BELHAMEL

Access this article online	
Website: www.univ-bejaia.dz/ajnp	Quick Response Code
DOI:10.5122.ajnp/2016.03.02	