



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عبد الحميد ابن باديس - مستغانم

UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS, MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présentée par :

M^{elle} CHIGUER kheira

Pour l'obtention du diplôme :

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

OPTION : Agroalimentaires et Contrôle De Qualité.

Thème

**Étude de l'Activité Antibactérienne synergique de la Résine d'Oliban et du
Citrus aurantiifolia : Exploration des Mécanismes et Applications
Potentielles en Microbiologie."**

Devant le jury

- | | | |
|--|-----|--------------|
| - Présidente : MIR Hakima | MCA | U.Mostaganem |
| - Encadrante : ALACHAHER Fatima Zohra | MAB | U.Mostaganem |
| - Examinatrice : CHERRAD Hayet | MAB | U.Mostaganem |

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui me a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon encadrant, **Dr. ALACHAHER FATIMA ZOHRA**, pour m'avoir dirigé avec une disponibilité permanente et pour tous les efforts qu'elle a consenti tout au long de l'élaboration de ce modeste travail. Ses encouragements, ses précieux conseils, la confiance qu'il m'a toujours témoignée. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.*

*Nous voudrions remercier l'ingénieur de Laboratoire LMBAFS Madame **Djahira HAMED**, pour son aide, sa disponibilité, son soutien et sa sympathie, et pour donner des informations sur notre recherche.*

*Je souhaite ensuite remercier tous les membres de mon jury de mémoire, dont particulièrement **Dr. Mir Hakima** et **Dr. Cherrad Hayet**, ma profonde gratitude et mon respect pour m'avoir fait l'honneur d'examiner et de juger mon travail.*

*Mes profonds remerciements vont à toute l'équipe pédagogique responsable à la formation «**Sciences alimentaires**», département de biologie, université de Mostaganem.*

Nos remerciements vont aussi à tous professeurs, enseignants et toutes les personnes qui nous a soutenus jusqu'au bout, et qui ne cessent de nous donner des conseils très importants enseigne de reconnaissance.

Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers, je cite :

Mon frère Charef que dieu bénisse son âme.

Les parents les plus chers au monde, Papa et Maman, que le dieu les garde et protège.

Mon frère Amar, mes chers soeurs Fatiha; Amina ; Nadia et son Mari Kader

Mes oncles et Tantes particulièrement : ma tante Mamma ainsi que leurs épouses, époux et enfants.

Toutes mes amies, particulièrement : Safia ; Khadija ; Yasmine ; Imane.

Toute la promotion 2019 de la spécialité Agro-alimentaire et contrôle de qualité de Mostaganem

Liste des abréviations

C.O : *Citrus aurantiifolia*

B.C : *Boswellia carteri*

EAG : équivalent d'acide gallique

EQ : équivalent de quercitrine

F : facteur de dilution

μL : microlitres

μg : microgramme

G : gramme.

Mg : milligramme

Nm : nano mètre

Liste des figures

Figure 01. <i>Boswellia tree</i>	3
Figure 02. Les parties d'arbre <i>Boswellia</i>	5
Figure03. Production mondiale de <i>Boswellia tree</i>	6
Figure 04. Citron vert (<i>citrus aurantiifolia</i>) ou lime acide	10
Figure 05. La résine d'encens (photo prise au laboratoire)	17
Figure 06. Les étapes de l'extraction des extraits aqueux de la résine d'encens	19
Figure07. Les étapes de l'extraction de l'oliban (photo prises au labortoire).....	20
Figure08. Les étapes de l'extraction des extraits aqueux de <i>citrus aurantiifolia</i>	22
Figure09. Les étapes de dosage des polyphénole totaux	25
Figure10. Dosage de flavonoïdes totaux	27
Figure11. Les étapes de l'activité antimicrobienne	29
Figure12. la courbe de l'acide gallique	30
Figure13. Teneur en polyphénols des extraits aqueux	31
Figure14. La courbe d'étalonnage du quercetine	32
Figure15. Teneur en flavonoides des extraits aqueux	32
Figure 16. Résultat de l'activité antimicrobienne d'extrait aqueux de l'écorce de <i>C.aurantiifolia</i> contre les cinq souches utilisées	34
Figure 17. Résultat de l'activité antimicrobienne d'extrait aqueux de la résine D'encens contre les cinq souches utilisées	36
Figure 18. Résultat de l'activité antimicrobienne de la synergie aqueux de la résine d'encens et l'écorce du citron vert	38

Liste des tableaux

Tableau I. Systématique de <i>Boswellia sacra</i>	4
Tableau II. Systématique de <i>Citrus aurantiifolia</i>	11
Tableau III. La nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.....	23
Tableau IV. Effet antimicrobien de l'extrait aqueux d'écorce de <i>Citrus aurantiifolia</i> Sur les souches bactériennes	35
Tableau V. Effet antimicrobien de l'extrait aqueux de la résine d'encens sur Les souches bactériennes	37
Tableau VI. Effet antimicrobien de la synergie entre l'extrait aqueux de résine D'encens et l'écorce de citron vert sur les souches bactériennes	39
Tableau VII. Diamètre de la zone d'inhibition	40

Table des matières

IBTRODUCTION

REVUE BIBLIOGRAPHIQUES

1. Généralité sur la résine encens	3
1.2 Historique	4
1.3 Classification de description botanique	4
1.4 Production et récolte de la gomme résine	5
1.5 Propriétés de l'encens d'oliban.....	6
2. L'activité antioxydant de la résine d'oliban	7
2.1 Les acides boswelliques	7
2.2 Les flavonoïdes	7
2.3 Les terpénoides	7
3. L'activité antibactérienne de la résine d'oliban.....	8
Les acides boswelliques	8
4. Généralités sur les agrumes	9
5. L'activité antioxydante et antibactérienne de l'écorce de citron vert	11
6. Théorie de la synergie dans les plantes médicinales	12
6.1 Synergie moléculaire	12
6.2 Synergie physiologique	12
6.3 Synergie pharmacologique	12
7. Recherches antérieurs sur la synergie entre les plantes médicinales	13
8. Raison de l'association entre la résine d'oliban et le citrus aurantifolia.....	14
9. Description des microorganismes étudiés	14

MATERIAL ET METHODES

1. Matériel végétal	17
1.2 Caractéristiques de la gomme utilisée	17
Préparation de la poudre de résine	17
Préparation des extraits aqueux d'oliban	18
2. <i>Citrus aurantiifolia</i>	21

2.1 Préparation de l'extrait aqueux d'écorce de citron vert	21
3. Préparation de l'extrait aqueux d'écorce de citron vert et de la résine d'encens	23
4. Souches bactériennes utilisées	23
5. Dosage des polyphénols totaux.....	23
6. Dosage des flavonoïdes	26
7. Activité antimicrobienne	27
RESULTATS ET DISCUSSION	
1.1 Teneur en polyphénols totaux.....	30
2. Teneur des flavonoïdes totaux.....	32
3. Evaluation du pouvoir antimicrobienne	33
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

Résumé

Dans un contexte où la préoccupation croissante concernant la résistance aux antibiotiques motive la recherche de solutions alternatives et durables pour contrer les infections bactériennes, l'intérêt pour les extraits naturels de plantes, riches en composés bioactifs, s'accroît considérablement en raison de leurs propriétés antimicrobiennes potentielles. Cette étude vise à évaluer l'activité antibactérienne ainsi que la teneur en polyphénols et flavonoïdes de trois extraits aqueux : la résine de *Boswellia*, l'écorce de *Citrus aurantiifolia* et leur combinaison. Les polyphénols ont été quantifiés par la méthode de FolinCiocalteu et les flavonoïdes par la méthode au trichlorure d'aluminium. L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée via la méthode de diffusion en puits. Les résultats ont révélé que la combinaison d'écorce de citron vert et de résine d'encens présente la plus grande concentration en polyphénols et flavonoïdes, ainsi qu'une zone d'inhibition significativement plus élevée contre une variété de germes pathogènes, incluant *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* et *C. albicans*. Ces observations suggèrent une synergie entre les extraits, renforçant ainsi leur activité antibactérienne. En conclusion, cette étude met en lumière le potentiel prometteur de la combinaison de résine d'encens et d'écorce de citron vert comme alternative naturelle aux antibiotiques traditionnels, ouvrant ainsi la voie à des perspectives d'optimisation de formulations et de développement de nouveaux produits pharmaceutiques et vétérinaires.

Abstract

In a context where antibiotic resistance is becoming an increasing concern, the search for alternative and sustainable solutions to combat bacterial infections has become essential. Natural plant extracts, rich in bioactive compounds, are garnering growing interest due to their potential antimicrobial properties. This study aims to evaluate the antibacterial activity as well as the content of polyphenols and flavonoids in three aqueous extracts: *Boswellia* resin, *Citrus aurantiifolia* peel, and their combination. Polyphenols were quantified using the Folin-Ciocalteu method and flavonoids using the aluminum trichloride method. The assessment of antibacterial activity was conducted using the well diffusion method. Results revealed that the combination of lime peel and frankincense resin exhibited the highest concentration of polyphenols and flavonoids, as well as the largest inhibition zone against a range of pathogenic bacteria, including *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, and *C. albicans*. These findings suggest a synergy between the extracts, enhancing their antibacterial activity. Overall, this study highlights the promising potential of the combination of frankincense resin and lime peel as a natural alternative to traditional antibiotics, paving the way for optimization of formulations and development of new pharmaceutical and veterinary products.

الخلاصة

في سياق القلق المتزايد بشأن مقاومة المضادات الحيوية الذي يدفع إلى البحث عن حلول بديلة ومستدامة للعدوى البكتيرية، يتزايد الاهتمام بالمستخلصات النباتية الطبيعية الغنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا بشكل كبير نظرًا لخصائصها المحتملة المضادة للميكروبات. كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ومحتوى البوليفينول والفلافونويد لثلاثة مستخلصات مائية: راتنج البوزوبيليا ولحاء الحمضيات أورانتيفوليا ومزيجها. تم تحديد كمية البوليفينول بطريقة Folin-ciocatlau والفلافونويدات بطريقة قياس الألوان ثلاثي كلوريدا لألمنيوم. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار الجيد. وأظهرت النتائج أن مزيج قشر الليمون وراتنج اللبان يحتوي على أعلى تركيز للبوليفينول والفلافونويد، بالإضافة إلى منطقة تثبيط أعلى بكثير ضد مجموعة متنوعة من مسببات الأمراض، بما في ذلك الإشريكية القولونية والإشريكية القولونية والبكتيرية الذهبية والبكتيريا الزنجارية والبكتيريا البكتيرية والبكتيريا البيضاء. تشير هذه الملاحظات إلى وجود تآزر بين المستخلصات، مما يعزز نشاطها المضاد للبكتيريا. في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على الإمكانيات الواعدة للجمع بين راتنج اللبان وقشر الليمون كبديل طبيعي للمضادات الحيوية التقليدية، مما يمهد الطريق لتحسين التركيبات وتطوير منتجات جديدة

INTRODUCTION

Depuis des millénaires, l'homme utilise les plantes pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Aujourd'hui, les produits naturels sont de grand intérêt pour divers secteurs tels que la cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie (**Pourbaix, 2000**). Les plantes médicinales sont une source cruciale de nouvelles molécules pour le développement de futurs médicaments (**Maurice, 1997**).

Actuellement, l'efficacité des antibiotiques diminue en raison de la résistance croissante des bactéries et des virus. Cette situation rend urgente la recherche de solutions alternatives et durables pour lutter contre les infections bactériennes (**Collectif, 2001**). Parmi les molécules naturelles étudiées, les polyphénols et les flavonoïdes se distinguent par leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Les composés phénoliques jouent un rôle clé dans la croissance et la protection des plantes contre les agressions extérieures (**Hu & Luo, 2016**). Les flavonoïdes, quant à eux, sont responsables de diverses fonctions telles que la pigmentation des fleurs, la protection contre les UV et la défense contre les pathogènes (**Olsen et al., 2010**).

Dans un contexte où la résistance aux antibiotiques émerge comme un défi croissant, l'exploration de solutions alternatives à base de plantes pour lutter contre les infections bactériennes revêt une importance capitale. Les extraits naturels de plantes, riches en composés bioactifs, sont de plus en plus étudiés en raison de leurs propriétés antimicrobiennes potentielles. Une approche novatrice consiste à explorer la synergie entre différents extraits végétaux, qui pourrait renforcer leur efficacité contre les agents pathogènes. Cette synergie est particulièrement prometteuse dans le domaine de la santé, offrant des alternatives naturelles aux traitements conventionnels tout en réduisant les risques de résistance et d'effets secondaires (**Bodeker et al., 2021**).

L'écorce de *Citrus aurantiifolia* (citron vert) et la résine de *Boswellia*, deux extraits végétaux largement étudiés pour leurs propriétés médicinales, sont des candidats idéaux pour explorer cette synergie. Le citron vert est reconnu pour sa richesse en flavonoïdes, notamment l'ériocitrine et l'hespéridine, aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires bien documentées (**Mozaffari-Khosravi et al., 2019**). D'autre part, la résine de *Boswellia* est riche en acides boswelliques et terpènes, qui ont démontré des effets anti-inflammatoires et antimicrobiens dans de nombreuses études (**Ammon, 2016**).

Cette étude vise à évaluer la synergie entre ces deux extraits, ainsi que leur combinaison, en quantifiant leurs composés phénoliques et flavonoïdes. En outre, nous chercherons à explorer leur potentiel synergique dans l'inhibition de la croissance de divers agents pathogènes, notamment *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* et *C. albicans*. Cette approche novatrice pourrait ouvrir la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur des combinaisons synergiques de produits naturels, offrant ainsi des alternatives efficaces et durables aux traitements conventionnels.

CHPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUES

1. Généralité sur la résine encens

L'oliban est une résine oléo-gommeuse produite par différentes espèces du genre *Boswellia*, appartenant à la famille des Burséracées, qui compte environ 700 espèces réparties en 18 genres (**Rudiger et al, 2007**). Les principales espèces productrices sont actuellement *Boswellia serrata* en Inde du Nord-Ouest, *B. sacra* en Arabie (sud du Yémen, Oman), *B. frereana* endémique du Nord de la Somalie et *B. carteri* (synonyme de *B. sacra*) présente communément dans la Corne de l'Afrique : Nord de la Somalie, Soudan, Érythrée et Éthiopie (**Boudjeriou, 2022**).

Diverses sources définissent le terme "oliban". Le mot latin "olibanum", apparu dans un texte du XIème siècle, provient du grec et signifie "baume" ou "baumier" (dictionnaire de Littré). Il est également lié aux termes "leban" ou "lûban" en arabe et "lebonah" en hébreu, signifiant "blanc de lait", en référence à la couleur blanche des larmes d'encens.

Le mot "encens" dérive du latin "incenum" et désigne un objet allumé ou brûlé. Actuellement, il est souvent utilisé pour désigner toute résine parfumée qui libère une odeur lors de la combustion, quelle que soit son origine botanique.

Le terme "encens" est spécifiquement réservé à une résine particulière, l'oliban. On parle alors d'encens "vrai" ou "véritable" (**Le Petit Larousse, 1993**). Il s'agit plus précisément de la sécrétion issue de l'écorce de certains arbres de la famille des *Burséracées* appartenant au genre *Boswellia* (**Amra, 2012**).

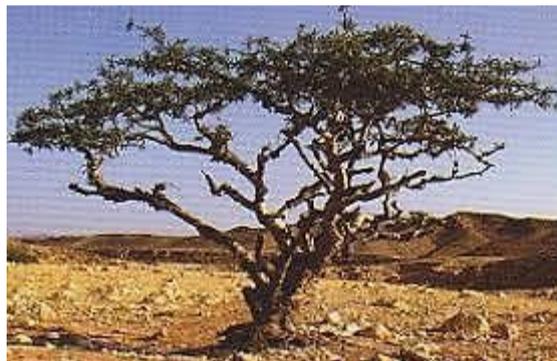


Figure01.Boswelliatree (**Boudjeriou,2022**)

1.2. Historique

L'oliban est une des résines les plus importantes utilisées à travers l'histoire, bien que son utilisation soit aujourd'hui réduite. Considéré comme un produit précieux, il est connu depuis la plus haute antiquité, notamment par des peintures et des gravures datant d'environ 1600 av. J.-C. découvertes dans le temple égyptien de Deir-el-Bahari, qui décrivent le commerce entre les Égyptiens et les peuples voisins. Bien que ce produit n'ait pas été originaire d'Égypte, il a été importé. Certains auteurs, comme Hildebrandt (1878), pensent qu'une origine dans le nord de la Somalie est plus probable (Boudjeriou, 2022).

1.3. Classification et description botanique

La classification botanique de *Boswellia sacra* est indiquée dans le tableau suivant

Tableau I. Systématique de *Boswellia sacra* selon (Frohne & Jensen, 1998).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Burserceae
Genre	Boswellia
Espèce	Boswellia

L'arbre à encens est un petit arbre à feuilles caduques d'une hauteur de 2 à 8 m, qui comporte un ou plusieurs troncs. L'écorce à texture de papier pèle facilement. Les feuilles composées et imparipennées sont rassemblées en touffes au bout des branches. Les petites fleurs d'un blanc jaunâtre apparaissent à l'aisselle des feuilles. Elles sont composées de cinq pétales, de dix étamines et d'un calice à cinq dents. Le fruit est une capsule d'environ 1 cm de long. Les jeunes branches sont recouvertes de duvet. Cet arbre pousse dans les régions sèches du nord-est de l'Afrique et du sud de la péninsule Arabique. Il tolère les situations très exposées et on le retrouve souvent sur les pentes rocheuses et dans les ravins, jusqu'à une altitude d'environ 1 200 m. Il préfère les sols calcaires (Boudjeriou, 2022).

Organe	Photos
Fleurs	
Encens d'oliban	

Figure 02. Les parties d'arbre *Boswellia* (Boudjeriou, 2022).

1.4. Production et récolte de la gomme-résine

La récolte de l'encens se fait en râpant l'écorce du tronc. L'arbre agressé produit de la gomme-résine pour se protéger. Cette gomme forme des gouttes qui grossissent et sèchent sur la surface du tronc. Ces gouttes séchées de résine (parfois appelées larmes) sont ensuite récoltées, une quinzaine de jours plus tard, pour être nettoyées des résidus d'écorce et triées selon leur qualité et leur taille (senteursdumonde.ch, 2023).

Le somalie exploite *Boswellia bhau-dajiana*, mais surtout *Boswellia carteri* et *boswellia frereana*. Il a souvent été question d'encense, avec une certaine confusion d'ailleurs et sans raison scientifique, de *Boswellia* mâles ou femelles, alors que les fleurs sont toutes hermaphrodites. Bien que toutes les parties de la plante renferment de l'oliban en plus ou moins grande quantité, on l'extrait essentiellement de l'écorce du tronc ou des branches (Dupéron, 1979). Les renseignements concernant le calendrier des collectes de l'encens, c'est-

à-dire l'intervalle entre les collectes et la périodicité des saignées, sont plutôt imprécis selon les sources (Hepper, 1969 ; Barbier, 1982 ; Svoboda *et al*, 2001).

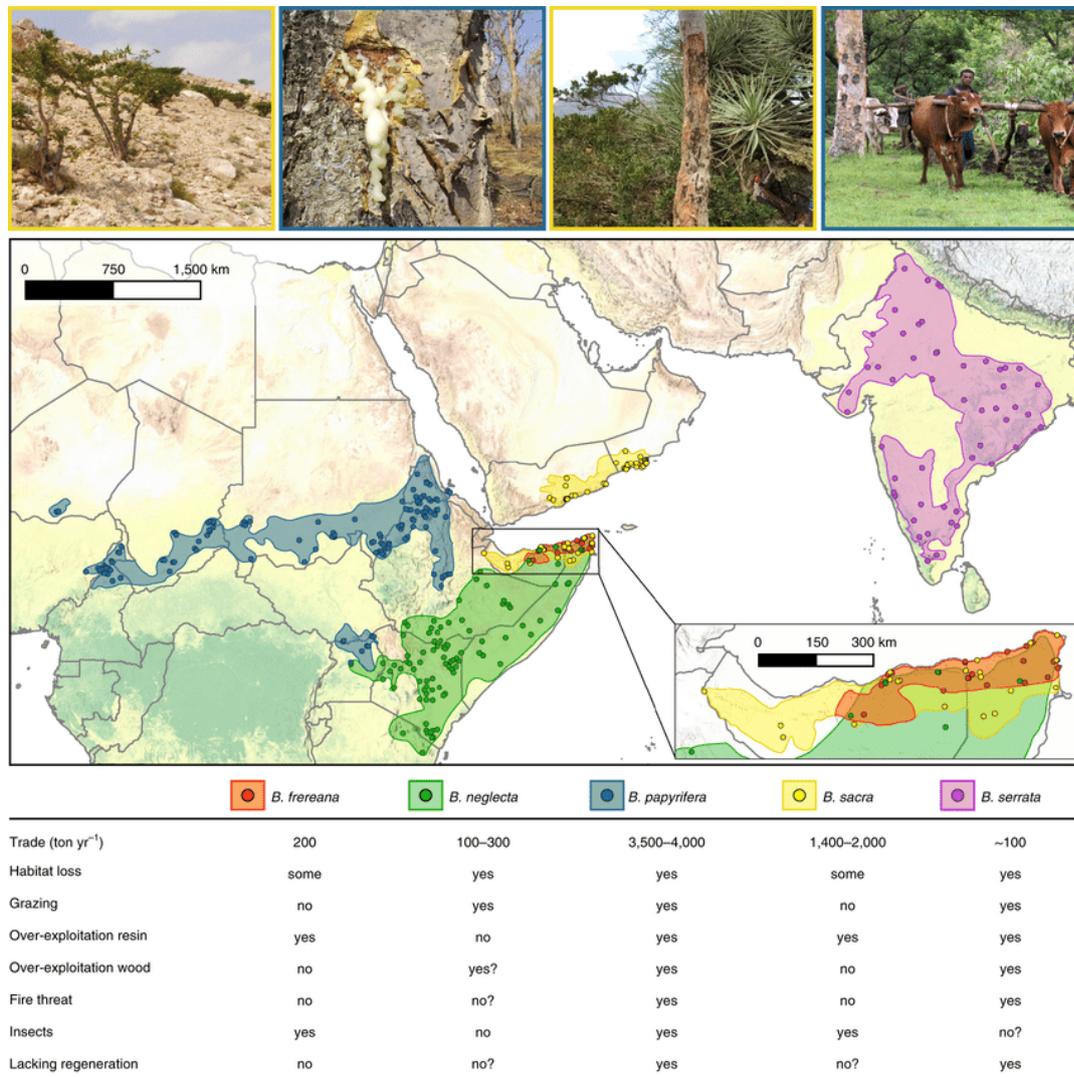


Figure 03. Production mondiale de *Boswellia tree*

1.5. Propriétés de l'encens oliban

L'encens d'oliban offre des bienfaits anti-inflammatoires et biologiques remarquables, soutenus par des recherches approfondies. Les boswelliates, des composés actifs présents dans l'oliban, ont démontré leur capacité à inhiber les enzymes impliquées dans le processus inflammatoire, réduisant ainsi la production de substances pro-inflammatoires telles que les cytokines et les leucotriènes (Siddiqui, 2011). Ces propriétés anti-inflammatoires ont été étudiées pour leur efficacité dans le soulagement des douleurs articulaires et musculaires, ainsi que dans le traitement de diverses maladies inflammatoires telles que l'arthrite et la colite ulcéreuse (Singh *et al.*, 2011). De plus, des recherches ont montré que l'encens d'oliban

possède des propriétés antioxydantes, protégeant ainsi les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres et contribuant à réduire le stress oxydatif dans le corps (**Al-Harrasi et al., 2004**). Ces effets biologiques sont attribués à une variété de composés bioactifs présents dans l'encens, y compris les acides boswelliques et les triterpènes, qui ont également été associés à des effets anticancéreux et neuroprotecteurs (**Al-Harrasi et al., 2004; Moussaieff et al., 2008**). En outre, des études ont montré que l'encens d'oliban peut moduler le système immunitaire en stimulant la production de lymphocytes T et en régulant la réponse inflammatoire, renforçant ainsi la défense de l'organisme contre les infections et les maladies (**Moussaieff et al., 2008; Roy et al., 2015**). Ces découvertes soulignent l'importance de l'encens d'oliban en tant qu'agent thérapeutique prometteur dans le traitement des troubles inflammatoires et des maladies chroniques, offrant une approche naturelle et holistique pour soutenir la santé et le bien-être.

2. L'activité antioxydant de la résine d'oliban

La résine d'oliban présente des propriétés antioxydantes importantes. Ces propriétés sont attribuées à la présence de composés photochimiques tels que les acides boswelliques, les flavonoïdes et les terpénoïdes, qui agissent en neutralisant les radicaux libres et en inhibant les processus oxydatifs (**Safayhi et al., 1992**).

2.1. Les acides boswelliques : sont des composés bioactifs majeurs de la résine d'oliban qui ont démontré des activités antioxydantes significatives. Ces acides agissent en neutralisant les radicaux libres et en réduisant le stress oxydatif, ce qui peut contribuer à la prévention des maladies chroniques liées à l'oxydation, telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Huang et al., 1987**).

2.2. Les flavonoïdes : sont des composés polyphénoliques présents dans la résine d'oliban qui ont également des propriétés antioxydantes. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en inhibant la peroxydation des lipides, ce qui contribue à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs et au maintien de la santé cellulaire (**Al-Yasiry et al., 2017**).

2.3. Les terpénoïdes : sont une classe de composés présents dans la résine d'oliban qui ont montré des activités antioxydantes. Ces composés peuvent agir en activant les enzymes antioxydantes endogènes et en inhibant les processus oxydatifs, ce qui peut contribuer à réduire le risque de dommages cellulaires et de maladies associées à l'oxydation (**Chevrier et al., 2011**).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont confirmé l'activité antioxydants de la résine d'oliban, souvent en utilisant des tests tels que le pouvoir antioxydant total, la capacité de piégeage des radicaux libres et la peroxydation lipidique. Ces recherches ont démontré que la résine d'oliban peut protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et contribuer à la prévention des maladies liées à l'oxydation.

L'activité antioxydante de la résine d'oliban en fait un candidat prometteur pour le développement de produits de santé naturels et de médicaments pour la prévention et le traitement des maladies chroniques (**Gao *et al.*, 2011**).

3. L'activité antibactérienne de la résine d'oliban

En plus de son activité antioxydant, la résine d'oliban présente également une activité antibactérienne significative contre un large éventail de bactéries pathogènes. Cette activité est attribuée à plusieurs composés bioactifs présents dans la résine, notamment les acides boswelliques, les acides triterpéniques et les huiles essentielles (**Tchuendem *et al.*, 2016**).

3.1 Les acides boswelliques, tels que l'acide boswellique α et β , sont parmi les principaux composés responsables de l'activité antibactérienne de la résine d'oliban. Ces composés ont démontré une forte capacité à inhiber la croissance de diverses souches bactériennes, y compris *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Streptococcus pyogenes*. L'acide boswellique a été associé à des effets inhibiteurs sur la synthèse de l'ADN bactérien, ce qui entraîne la mort des cellules bactériennes (**Sowemimo *et al.*, 2009**).

Outre les acides boswelliques, d'autres **composés triterpéniques** présents dans la résine d'oliban ont également montré une activité antibactérienne. Ces composés agissent en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, en entraînant une fuite de composés intracellulaires et en compromettant la survie bactérienne (**Al-Said *et al.*, 2011**).

Les huiles essentielles présentes dans la résine d'oliban ont été identifiées comme contribuant à son activité antibactérienne. Ces huiles contiennent des composés volatils tels que des monoterpènes et des sesquiterpènes, qui exercent des effets antimicrobiens en perturbant la structure membranaire des bactéries et en inhibant leur croissance (**Siddiqui *et al.*, 2011**).

Les études in vitro ont confirmé l'efficacité des extraits de résine d'oliban contre les bactéries, souvent en utilisant des méthodes de diffusion en gélose ou de dilution en série pour évaluer l'activité antibactérienne. Ces recherches ont montré que la résine d'oliban peut agir efficacement contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, ainsi que contre certaines souches résistantes aux antibiotiques.

L'activité antibactérienne de la résine d'oliban ouvre des perspectives prometteuses pour son utilisation dans le traitement des infections bactériennes, en particulier dans un contexte de résistance croissante aux antibiotiques.

4. Généralités sur les agrumes

Le terme "agrumes" trouve son origine dans le latin "agrus", qui désignaient à l'origine les plantes produisant des fruits au goût acide, tels que *l'ail* ou *les oignons*. Au fil du temps, sa signification a évolué pour désigner un groupe de plantes de la famille des *Rutacées*, en particulier celles appartenant au genre *Citrus* (**Haddad & Merabet, 2017**).

Les agrumes appartiennent à la famille des *Rutaceae* et se divisent principalement en trois genres cultivés : *Fortunella*, *Poncirus* et *Citrus* (**Swingle, 1943**). Dans cette étude, notre intérêt se portera principalement sur le genre *Citrus*.

4.1. *Citrus aurantifolia*

Le citron vert (*Citrus aurantiifolia*) est principalement originaire des Antilles et d'Amérique du Sud. Le terme "lime" désigne généralement le fruit acide et amer d'une variété de limettier. Les citrons verts sont récoltés avant maturité et ont une écorce fine et lisse de couleur vert foncé, renfermant une essence aromatique, Selon (**Ménat ,2000**), la chair du citron vert présente des reflets verts, elle est juteuse et acide. *Citrus aurantifolia* est une plante aux propriétés sédatives, anti-inflammatoires, antispasmodiques et anticoagulantes (**Huet, 1991**). Elle est utilisée dans le traitement de l'anxiété, du stress, des entérocolites inflammatoires et spasmodiques. Très riche en huile essentielle, ses fruits sont utilisés pour traiter les maladies respiratoires non identifiées (**Lans et Tonya, 2006**).



Figure04.Citron vert (*Citrus aurantiifolia*)

Les écorces d'agrumes constituent une matrice hautement valorisable en raison de leur richesse en ingrédients fonctionnels tels que les huiles essentielles, les fibres, les caroténoïdes, la vitamine C et les composés phénoliques. Ces éléments trouvent des applications variées dans les industries agroalimentaires, cosmétiques, nutraceutiques, ainsi que dans la production de biocarburants et de matériaux biodégradables (**Ledesma, 2014**).

La peau du citron, également appelée écorce ou zeste, est brillante et varie en couleur du vert au jaune vif selon la maturité du fruit. Elle est prisée pour son arôme et son amertume dans les préparations culinaires et pharmaceutiques, ainsi qu'en parfumerie. Le zeste se forme à partir des parois externe et moyenne des carpelles floraux, comprenant l'épicarpe et le mésocarpe externe, ainsi que l'albédo ou mésocarpe interne.

L'endocarpe, ou pulpe, provient de l'épiderme interne des carpelles floraux. Il est composé d'un ensemble de poils vésiculeux à paroi mince, renfermant un jus plus ou moins acide et regroupés en 8 à 12 quartiers séparables les uns des autres. Les pépins fusiformes, issus des deux rangs d'ovules, sont blancs, contiennent généralement un seul embryon et sont souvent exalbuminés. De l'amertume, principalement la lémonine, ainsi qu'une huile grasse sont extraites de ces pépins.

La classification qu'occupe *Citrus aurantiifolia* dans la systématique est la suivante :

Tableau II. Systématique de *Citrus aurantiifolia* selon **Cronquist, (1982)**

Régne	Plantae
Sous-régne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Ructaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus aurantiifolia</i>

Le citron vert est largement utilisé en phytothérapie pour traiter divers problèmes de santé, notamment l'insomnie et l'anxiété. Il possède également des propriétés désaltérantes et antimicrobiennes, tout en étant toniques, stimulant, diurétique et antispasmodique (**Bardeau, 2009**). Des recherches menées par (**Ware et al., 2019**) ont démontré les bienfaits de l'écorce de citron vert pour réduire le risque d'accident vasculaire cérébral, augmenter l'absorption du fer, prévenir l'asthme et stimuler le système immunitaire.

Les écorces d'agrumes représentent un défi pour l'industrie des déchets d'un point de vue environnemental. Souvent, elles sont soit mises en décharge, incinérées, compostées, ou utilisées en partie pour l'alimentation animale. Cependant, ces déchets sont une source riche en composants précieux tels que la pectine, les huiles essentielles, la cellulose et des nutriments de fermentation comme les monosaccharides, ce qui en fait une ressource précieuse pour diverses applications industrielles (**Kyriakou et al., 2020 ; Teigiserova et al., 2021**).

5. L'activité antioxydante et antibactérienne de l'écorce de citron vert

L'écorce de citron vert (*Citrus aurantifolia*) est reconnue pour ses propriétés antibactériennes et antioxydantes, principalement attribuées à sa composition riche en composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les terpénoïdes et les huiles essentielles (**García-Díaz et al., 2021**).

Des études ont montré que l'écorce de *citron vert* possède une forte activité antibactérienne contre diverses souches de bactéries pathogènes. Les huiles essentielles présentes dans l'écorce, telles que le limonène, le citral et le linalol, ont démontré des effets inhibiteurs sur la croissance de bactéries telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et d'autres. Ces composés agissent en perturbant la membrane cellulaire des bactéries, en interférant avec leur métabolisme et en induisant une mort cellulaire (**Al-Tamimi et al., 2018**).

L'écorce de citron vert est également une source importante d'antioxydants naturels tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et la vitamine C. Ces composés ont démontré des activités antioxydantes en neutralisant les radicaux libres et en réduisant le stress oxydatif dans le corps. Des études *in vitro* ont montré que les extraits d'écorce de citron vert ont une capacité significative à piéger les radicaux libres et à prévenir la peroxydation lipidique, ce qui peut contribuer à la prévention des maladies liées à l'oxydation telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Martí et al., 2006**).

Les propriétés antibactériennes et antioxydantes de l'écorce de citron vert en font un ingrédient potentiellement précieux dans diverses applications, y compris en tant qu'agent conservateur naturel dans les aliments, en cosmétique pour ses effets nettoyants et en médecine pour le traitement des infections et la promotion de la santé (**Benavente et al., 2000**).

6. Théorie de la synergie dans les plantes médicinales

La théorie de la synergie dans les plantes médicinales met en avant le concept selon lequel les composés présents dans une plante interagissent de manière synergique pour produire des effets thérapeutiques supérieurs à ceux des composés isolés. Cette synergie peut se manifester à plusieurs niveaux, y compris au niveau moléculaire, physiologique et pharmacologique.

6.1 Synergie moléculaire : Les interactions moléculaires entre les composés d'une plante peuvent modifier leurs propriétés chimiques, améliorer leur biodisponibilité et influencer leur activité biologique. Par exemple, la présence de certains flavonoïdes peut augmenter l'activité des composés phénoliques en augmentant leur solubilité ou en les protégeant de la dégradation (**Manach et al., 2004**).

6.2 Synergie physiologique : Les différents composés présents dans une plante peuvent agir de manière complémentaire pour réguler les processus physiologiques du corps. Par exemple, une plante peut contenir des composés ayant des activités anti-inflammatoires, antioxydantes et analgésiques, agissant ensemble pour soulager la douleur et l'inflammation. (Liu, 2003).

6.3 Synergie pharmacologique : La combinaison de plusieurs composés dans une plante peut conduire à des effets pharmacologiques synergiques. Des études ont montré que certains mélanges de plantes peuvent avoir une activité antibiotique plus élevée que les composés individuels utilisés seuls, en raison de leurs interactions complexes avec les voies métaboliques bactériennes (Yadav & Agarwala, 2011)

La théorie de la synergie est soutenue par de nombreuses études scientifiques, ces recherches mettent en lumière l'importance de considérer la synergie des composés dans les plantes médicinales lors de l'évaluation de leur efficacité thérapeutique, ainsi que dans le développement de médicaments à base de plantes et de formulations phytothérapeutiques.

7. Recherches antérieures sur la synergie entre les plantes médicinales

Plusieurs études antérieures ont exploré la synergie entre les plantes médicinales, mettant en évidence des effets combinés qui dépassent souvent ceux des plantes utilisées individuellement. Ces recherches ont examiné diverses combinaisons de plantes et ont démontré leur potentiel synergique dans le traitement de diverses affections.

Une étude menée par Liu *et al.* (2003) a examiné la synergie entre différentes plantes médicinales chinoises dans le traitement du cancer. Les résultats ont montré que certaines combinaisons de plantes avaient des effets antiprolifératifs plus importants sur les cellules cancéreuses que chaque plante utilisée seule.

Dans une autre étude, Manach *et al.* (2004) ont étudié la synergie entre les polyphénols provenant de différentes sources alimentaires. Ils ont constaté que les polyphénols présents dans les fruits, les légumes et les plantes aromatiques agissaient de manière synergique pour fournir des effets antioxydants bénéfiques pour la santé.

Yadav et Agarwala (2011) ont examiné la synergie entre différentes plantes médicinales indiennes en évaluant leurs profils phytochimiques. Leurs résultats ont montré que certaines combinaisons de plantes présentaient des activités pharmacologiques complémentaires, ce qui suggère une synergie entre les composés actifs.

Ces études soulignent l'importance de considérer la synergie entre les plantes médicinales dans la (Amoah *et al.*, 2007).recherche et le développement de nouvelles thérapies à base de plantes.

8. Raison de l'association entre la *résine d'oliban* et le *citrus aurantifolia*

L'association entre *la résine d'oliban* et *le citrus aurantifolia* dans le cadre de l'étude sur l'activité antibactérienne synergique peut être justifiée par leurs propriétés complémentaires et leurs actions synergiques potentielles

La résine d'oliban possède des propriétés antibactériennes bien documentées, en raison de la présence d'acides boswelliques et d'autres composés bioactifs .Ces composés ont montré une activité contre un large éventail de bactéries pathogènes, ce qui en fait un candidat prometteur pour le traitement des infections (**Ene *et al.*, 2013**).

Le citrus aurantifolia, quant à lui, est reconnu pour ses propriétés antioxydants et antibactériennes, principalement attribuées à ses huiles essentielles et à sa teneur élevée en vitamine C .Ces composés ont démontré une activité contre diverses souches bactériennes et peuvent contribuer à renforcer le système immunitaire (**Al-Tamimi *et al.*, 2018**).

En associant *la résine d'oliban* et *le citrus aurantifolia*, il est possible de combiner leurs effets antibactériens et antioxydants respectifs, ce qui pourrait conduire à une action synergique plus efficace contre les infections bactériennes. De plus, les composés présents dans chaque plante pourraient agir en synergie pour renforcer leurs effets thérapeutiques, offrant ainsi une approche complète pour le traitement des maladies infectieuses (**Dhillon *et al.*, 2013**).

9. Description des microorganismes étudiés

- *Staphylococcus aureus*

Staphylocoque doré ou *Staphylococcus aureus* communément appelé le *staphylocoque doré* est une bactérie Gram positive, retrouvée sous forme de cocci immobiles d'environ 1µm de diamètre et qui se présente en diplocoques (des cocci associés par deux) ou sous forme d'amas formant ainsi la forme de grappes de raisin. Cette bactérie est pourvue de catalase (enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en H₂O et O₂), elle est mésophile et aéro-anaérobie facultatif. De plus, elle possède aussi, une coagulase, c'est à dire une enzyme

provoquant une coagulation du plasma, cette dernière est considérée parmi ses facteurs de virulence, ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. Elle est commensale et opportuniste, impliquée dans de différentes maladies chez l'homme et l'animal. Elle se retrouve pour la plupart des cas sur la peau, dans les muqueuses et les fosses nasales (Remy, 2010).

- *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie Gram négative, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Elle est sous forme de bacille mobile grâce à une ciliature péritriche), vivant isolée ou groupée par paire. Elle mesure environ 3µm pour un diamètre de 0.5µm (Remy, 2010). Ce micro-organisme est un hôte commensal du microbiote intestinal des animaux et de l'humain (Tenailon *et al*, 2010).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie à Gram négatif, sous forme bacillaire, fine, et droite de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur, se présentant de manière isolée ou groupée par deux ou en courtes chaînes, mobiles grâce à une ciliature mono triche, et dépourvu de spores et de capsule (Khalilzadeh, 2009)

- *Bacillus cereus*

Un grand bacille à Gram positif en forme de bâtonnet de 1 µm de large pour 3 à 4 µm de long, sporulé, mobile et de type respiratoire aéro-anaérobie. Le germe *B. cereus*, retrouvé de manière ubiquitaire dans le sol, est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires opportunistes.

- *Candida albicans*

Candida albicans est une levure naturellement présente chez l'homme, elle est responsable de nombreuses infections (Thierry, 2009). Elle est habituellement inoffensive et qui siège naturellement dans les voies génitales, le tube digestif, la bouche, la peau (Pfaller *et al.*, 2007). Parmi les 200 espèces de *Candida* connues, seule une vingtaine est responsable d'infections humaines. L'espèce *Candida albicans* est la plus fréquemment impliquée dans des

infections fongiques. Elle est notamment responsable de plus de 70 % des infections vaginales qui touchent la plupart des femmes au moins une fois dans leur vie (**Thierry, 2009**).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

L'**oliban** est une oléo-gomme-résine exsudée par les espèces appartenant au genre *Boswellia*, famille des *Burséracées*. Cette famille comprend environ 700 espèces distribuées en 18 genres (**Rudiger et al, 2007**). Elle se présente sous la forme de stalactites transparentes qui se solidifient à l'air une fois que la fraction volatile de surface s'est évaporée. La gomme-résine utilisée dans cette étude a été acquise auprès d'un herboriste à Belgaid, dans la wilaya d'Oran. Selon l'étiquette de l'emballage, cette gomme a été importée des magasins Al-Wafa en Arabie Saoudite, à Djeddah.



Figure 05. La résine d'encens (photo prise au laboratoire)

1.2. Caractéristiques de la gomme utilisée

La gomme est présente sous forme d'agglomérats arrondie ou irrégulière, de taille variable jusqu'à 5 cm de long sur 2 cm d'épaisseur. Elle est fracturée, cassée, cireuse, translucide et couverte d'une poussière grise. Elle est pâteuse et ne cristallise pas, mais se brise en fragments conchoïdaux, avec une couleur jaune brunâtre et parfois brun-rouge. Elle est caractéristique, profonde et fraîche, avec un goût aromatique, amer et agréable.

1.3. Préparation de la poudre de résine

- **Séchage** : L'oliban est lavé à l'eau courante pour éliminer toutes les impuretés et prévenir toute contamination possible. Ensuite, il est séché sous un chiffon ou du

papier imperméable pendant 24 heures, à température ambiante et à l'ombre, dans un endroit bien aéré.

- **Broyage** : La gomme-résine obtenue est ensuite pulvérisée à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre très fine.
- **Conservation** : La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre stérile, bien fermé afin de la protéger de l'air et de la lumière jusqu'à ce qu'il soit nécessaire de l'utiliser.

1.4.Préparation des extraits aqueux d'Oliban (encens)

Après broyage et séchage de l'oliban (encens) étudié, 10 g du matériel végétal sont agités pendant 30 minutes à température ambiante dans 100 mL d'eau pendant 24 heures. Ensuite, les extraits sont filtrés sur papier Whatman N°05, puis concentrés à l'étuve. Les solutions récupérées sont séchées dans l'étuve à 40°C pendant 72 heures, constituant ainsi les extraits bruts aqueux de l'oliban (encens) (**Karumi *et al.*, 2004**).

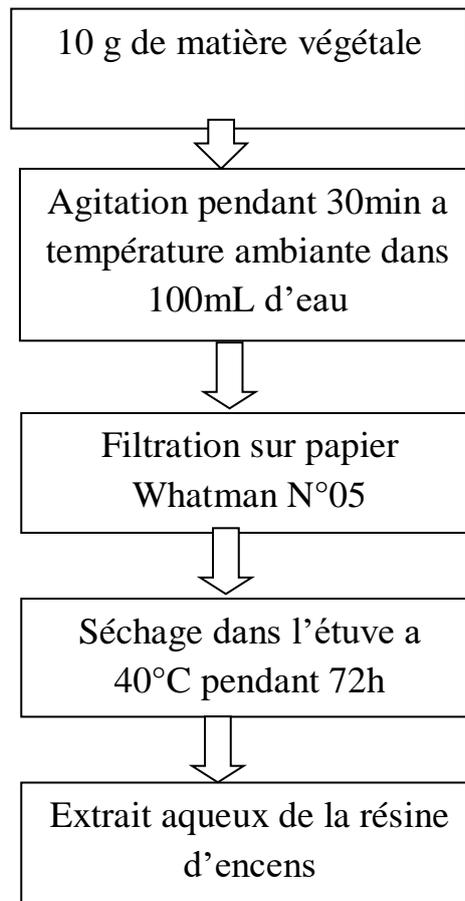


Figure 02. Les étapes de l'extraction des extraits aqueux de la résine d'encens

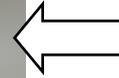
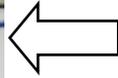
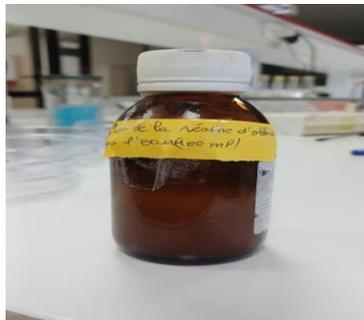
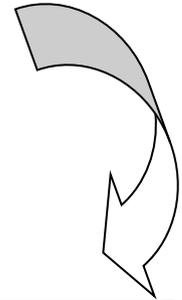
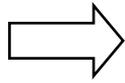


Figure 03. Les étapes de l'extraction de l'oliban (photos prises au laboratoire)

2. *Citrus aurantiifolia*

L'écorce de citron vert (*Citrus aurantiifolia*). Dans cette étude cette écorce a été acquise auprès d'un herboriste à Ain Safra Mark, dans la wilaya de Mostaganem. Selon l'herboriste, il est récolté en février 2024 sur des Terres agricoles de la région Aïn Boudinar, Wilaya de Mostaganem.

La partie externe du citron jaune est nettoyée. La partie du zeste (épicarpe) est séché à l'étuve pendant 1h à 70°C, puis broyé en poudre à l'aide d'un mixeur, et conservé jusqu'aux jours d'extraction.

2.1. Préparation de l'extrait aqueux d'écorce de citron vert

Après broyage et séchage l'écorce de citron vert étudié, 10 g du matériel végétales et soumis à une agitation pendant 30min à température ambiante, dans 100 mL d'eau pendant 24heures. L'extrait ensuite filtrés sur papier Whatman N°05, puis concentrés au l'étuve. La solution récupérée est séchée dans l'étuve à 40°C pendant 72h, c'est l'extrait brut aqueux pour écorce de citron vert *C.aurantiifolia* (Karumi *et al.*, 2004).

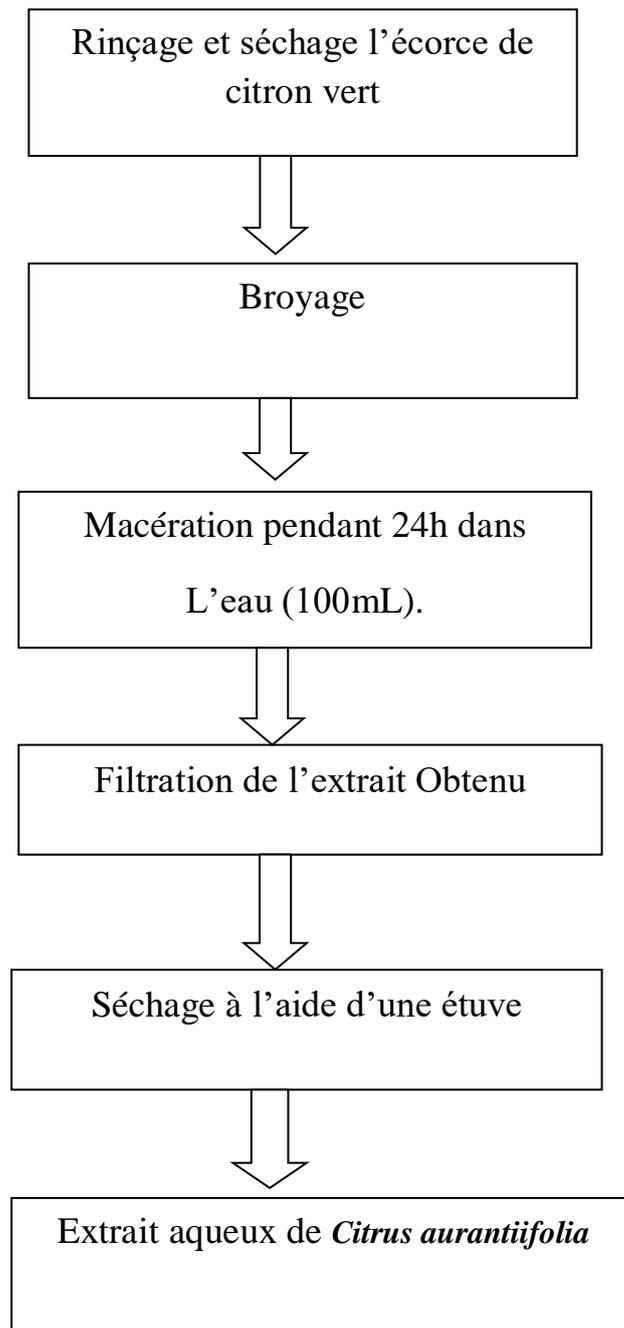


Figure 04. Les étapes de l'extraction des extraits aqueux de *Citrus aurantiifolia*

3. Préparation de l'extrait aqueux d'écorce de citron vert et de la résine d'encens

Après extraction, les deux plantes ont produit des extraits bruts. Pour créer une synergie entre les deux à utiliser dans les paramètres de notre étude, nous avons pris 50 mg de chaque extrait, que nous avons mélangés dans 1 ml d'eau distillée. Nous avons agité pendant 2 minutes pour obtenir un mélange bien homogène.

4. Souches bactériennes utilisées

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), obtenues auprès de laboratoire de microbiologie de l'université de Mostaganem.

Tableau III. La nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.

Souches	Références	Gram
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négative
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	Positive
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négative
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862	Positive

5. Dosage des Polyphénols Totaux

a) Principe

Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique utilisant le réactif de FolinCiocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide Phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄) et d'acide Phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dont l'absorbance est comprise entre 725 et 760 nm (**Lit et al., 2007**).

b) Mode opératoire

En bref, 1mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dix fois dans le méthanol a été ajouté à 200 µL d'échantillon ou d'étalon. Après 4 min, la réaction a été neutralisée avec 800 µL d'une solution de carbonate de sodium (75 g/L). L'absorbance a été mesurée à 760 nm après 2 h

d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière contre un blanc (tous les constituants en remplaçant l'échantillon par 200 µL de méthanol).

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0 à 250 µg/mL).

La teneur en polyphénols totaux a été exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) selon la formule suivante (**Bhandari et Rajbhandari, 2014**):

$$PT = C * V / M$$

C = concentration d'acide gallique (mg/mL) trouvée à partir de la courbe d'étalonnage ;

V = volume de l'extrait utilisé selon le protocole en ml ;

M = poids de l'extrait de la plante en gramme.

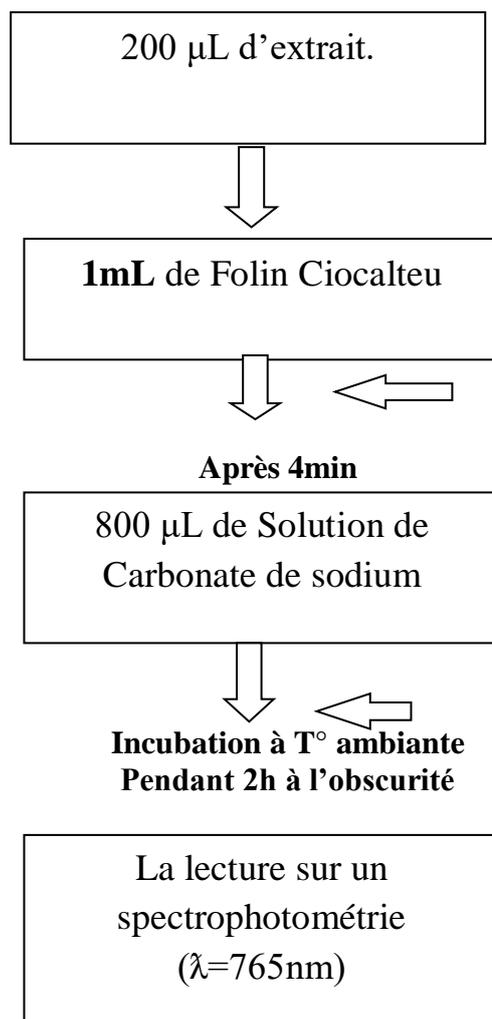


Figure 05. Les étapes de dosage de polyphénole totaux (Lit *et al.*, 2007).

6. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium décrite par **Bahorun *et al.* (1996)** a été utilisée pour déterminer les flavonoïdes. Au cours de cette réaction, l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium entraîne la formation d'un complexe de couleur rose qui absorbe à 430nm.

b) Mode opératoire

Un Volume de 1 mL d'extrait a été additionné à 1 ml de Trichlorure d'aluminium à 2% (AlCl₃). Le mélange a été placé à température ambiante et a l'obscurité pendant 10 min puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm sur un Spectrophotomètre. Le Quercétine est utilisé comme standard de référence.

La teneur en flavonoïdes totaux a été exprimée en milligrammes équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait) selon la formule suivante (**Bhandari et Rajbhandari, 2014**):

$$FT = C * V / M$$

C = concentration de quercétine (mg/mL) trouvée à partir de la courbe d'étalonnage ;

V = volume de l'extrait utilisé selon le protocole en mL ;

M = poids de l'extrait de la plante en gramme.

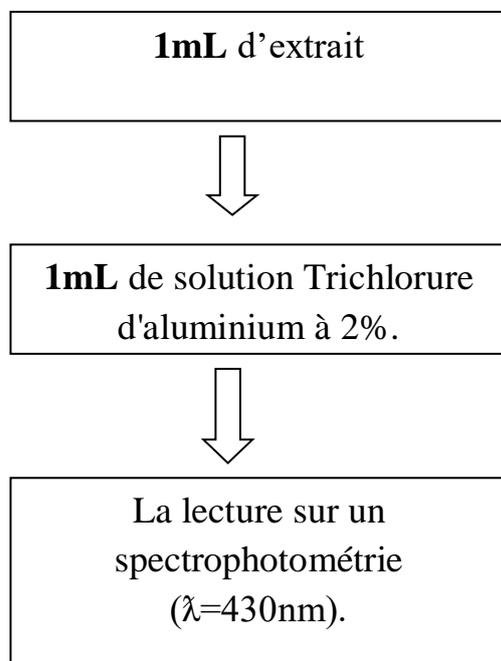


Figure6. Dosage de flavonoides totaux (Bhandari et Rajbhandari,2014).

7. Activité antimicrobienne

7.1. Réactivation de souches pathogènes

Les germes pathogènes, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, et *C. albicans* ont été réactivées en bouillon BHIB, et incubées à 37 °C pendant 24 H pour s'assurer de leurs puretés ainsi que les réactiver.

7.2. Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectué par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon BHIB à 37 °C pendant 24 heures d'incubation avant chaque test d'antagonisme pour obtenir une culture jeune, puis ajuster la densité optique entre l'intervalle de 0.08 à 0.1 à une longueur d'onde de 600 nm qui correspond à 108 UFC / ml (Kishor, 2005).

7.3 Méthode de diffusion en puits

Cette méthode de diffusion est largement utilisée en microbiologie, notamment dans les tests d'antibiogramme et d'antifongogramme. Elle implique la propagation d'un composé antimicrobien dans un milieu semi-solide, généralement de la gélose molle. L'effet de ce composé sur la cible est évalué par la mesure d'une zone d'inhibition. En fonction de cette zone, la sensibilité de la souche testée est qualifiée de sensible, intermédiaire ou résistante. Dans cette technique, il y a une compétition entre la croissance du microorganisme et l'effet de diffusion du produit testé (**Broadsky *et al.*, 1976**).

La procédure consiste à couler 15 ml de milieu Muller Hinton molle contenant 100 µl d'une culture jeune de 24 heures avec une densité de 10⁸ UFC/ml sur une boîte de Pétri. Après solidification à température ambiante dans une zone stérile, des puits sont créés à l'aide d'un embout jaune stérile. Un puits de 6 mm de diamètre est réalisé dans chaque boîte.

-50 µl de l'extrait de résine (extrait aqueux) est placé dans les puits.

-50 µl de l'extrait d'écorce de citron vert (extrait aqueux) est placé dans les puits.

-50 µl de l'extrait aqueux de la résine et le citron vert (extrait aqueux) est placé dans les puits.

Les boîtes de Pétri sont incubées à 37 °C pendant 24 heures pour permettre une bonne diffusion de la substance antibactérienne (**Cintas *et al.*, 1995; Chaalel *et al.*, 2017**). Après cette période, la présence de zones d'inhibition autour des puits est examinée (**Hwanhlem *et al.*, 2011**). Les résultats sont interprétés en mesurant le diamètre des zones d'inhibition : un diamètre supérieur à 2 mm est considéré comme positif.

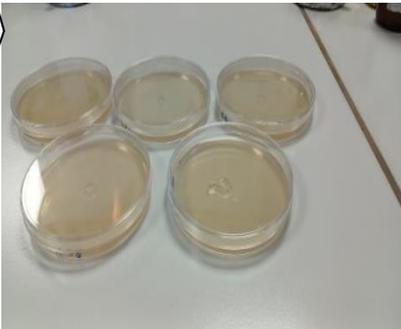
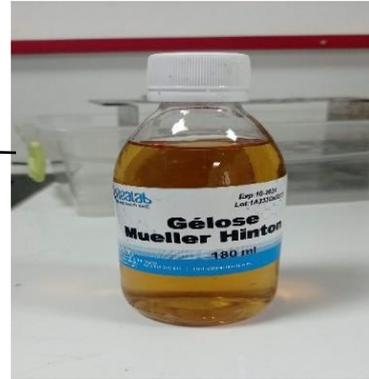
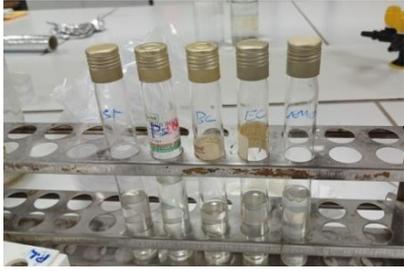


Figure 7. Les étapes de l'activité antimicrobienne

CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

1. Dosage des composés phénoliques

1.1. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux d'écorce de citron vert et de résine d'encens a été mesurée à l'aide d'une équation de régression linéaire basée sur la courbe standard. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (voir Figure 12).

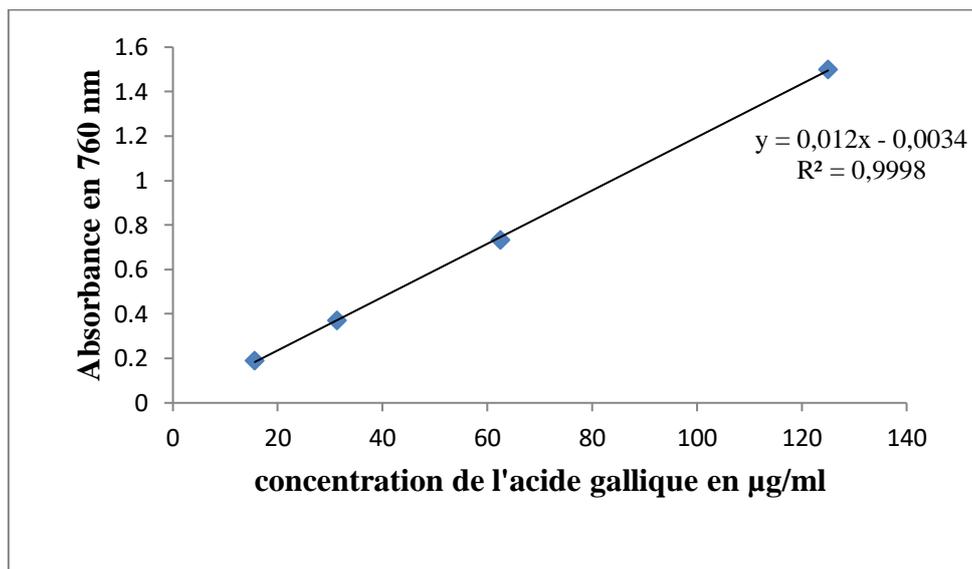


Figure 8. La courbe de l'acide gallique

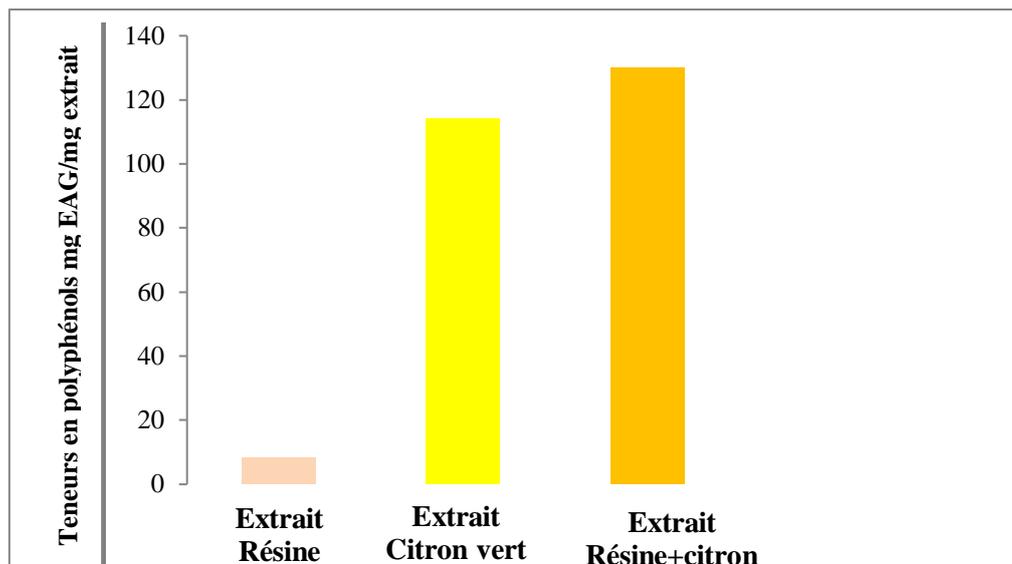


Figure 9. Teneur en polyphénols des extraits

Après les dosages réalisés, il a été constaté que les trois extraits étudiés contiennent des quantités significatives de composés phénoliques (voir Figure 13). Toutefois, l'extrait combiné d'écorce de citron vert et de résine d'encens présente la plus forte concentration en polyphénols, estimée à 130 mg EAG/extrait. Cette synergie est suivie par l'extrait d'écorce de citron avec 114 mg EAG et l'extrait de résine avec 7,66 μ g EAG/extrait.

Les analyses effectuées ont révélé que les trois extraits étudiés possèdent des teneurs significatives en composés phénoliques (voir Figure 13). En particulier, l'extrait combiné d'écorce de citron vert et de résine d'encens a montré la concentration la plus élevée en polyphénols. Cette synergie semble avoir potentialisé l'activité antioxydante des deux composés, ce qui pourrait expliquer cette augmentation notable.

L'extrait d'écorce de citron vert, avec une teneur de 114 mg EAG, se rapproche des valeurs rapportées par la littérature, notamment celles obtenues par **Rafaela *et al.* (2010)**. Cette concordance suggère une cohérence dans les méthodes de quantification utilisées et renforce la crédibilité de nos résultats.

En revanche, l'extrait de résine d'encens présente une teneur en polyphénols relativement faible. Cette différence notable par rapport aux autres extraits pourrait être attribuée à la nature intrinsèque de la résine d'encens, qui contient probablement moins de composés phénoliques en comparaison avec l'écorce de citron vert (**Yaqoob *et al.*, 2020**).

2. Dosage des flavonoïdes

Les équations de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, exprimées en microgrammes par milligramme d'extrait, ont été établies pour la quantification de la quercétine (**Figure 14**).

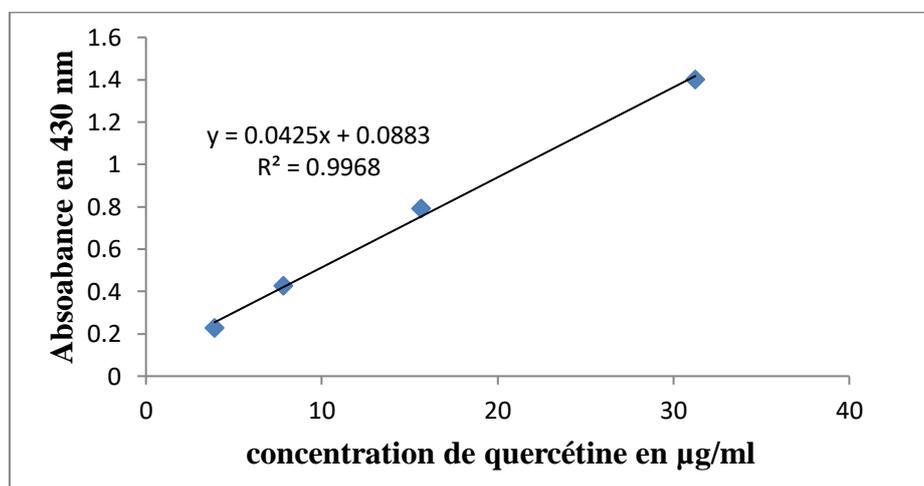


Figure 10. La courbe d'étalonnage du quercétine

Les concentrations relatives de flavonoïdes présentes dans les extraits étudiés sont illustrées dans **la figure 15**.

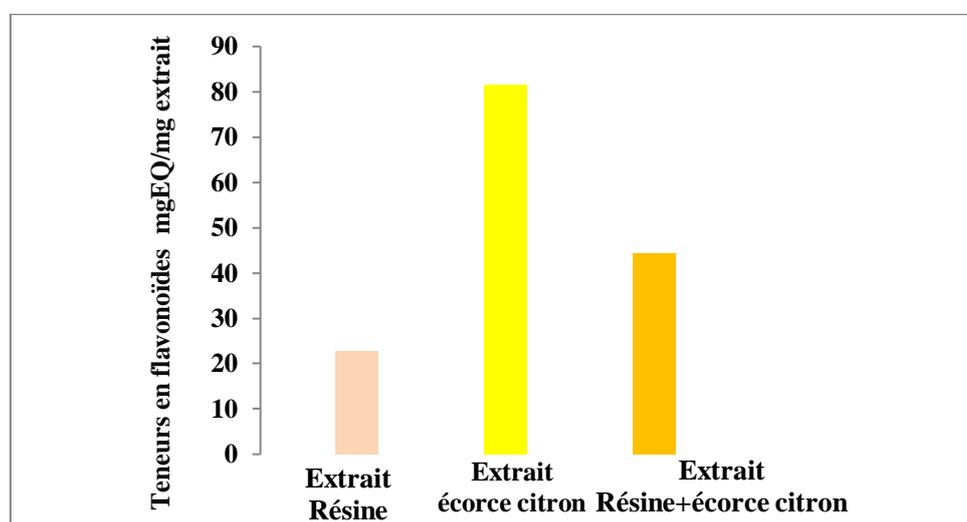


Figure 11. Teneur en flavonoïdes des extraits aqueux

Nos résultats ont révélé les teneurs en flavonoïdes des différents extraits. Cependant, l'extrait brut d'écorce de citron vert présente la concentration la plus élevée en flavonoïdes, suivi par l'extrait combiné de résine et de citron vert, puis par l'extrait de résine, avec des teneurs décroissantes respectivement.

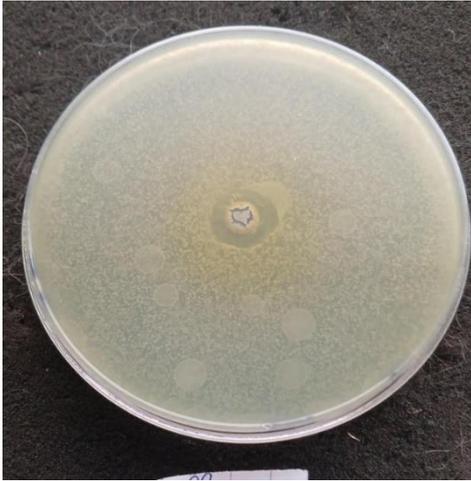
Ces observations peuvent être comparées à celles d'autres études. Par exemple, une étude menée par **Rafaela et al. (2010)** a également trouvé que les écorces de citron vert contiennent une concentration élevée en flavonoïdes, ce qui corrobore nos résultats. Selon leur recherche, les écorces de citron vert renferment une teneur importante en flavonoïdes, attribuée principalement à la présence de composés tels que la naringénine et l'hespéridine, connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes.

De plus, une étude de **Kumar et al. (2014)** a démontré que la combinaison d'extraits végétaux peut potentialiser les propriétés antioxydantes en augmentant la teneur totale en composés phénoliques et flavonoïdes. Cela pourrait expliquer pourquoi notre extrait combiné de résine et de citron vert montre une teneur en flavonoïdes plus élevée que l'extrait de résine seul.

L'extrait de résine d'encens, bien que présentant une teneur en flavonoïdes plus faible, n'est pas sans intérêt. D'autres recherches, comme celles de **Ahmed et al. (2013)**, ont souligné les propriétés médicinales uniques de la résine d'encens, notamment ses effets anti-inflammatoires et antimicrobiens, qui sont moins dépendants de la concentration en flavonoïdes mais plutôt de la présence d'autres composés bioactifs.

3. Évaluation du pouvoir antimicrobienne

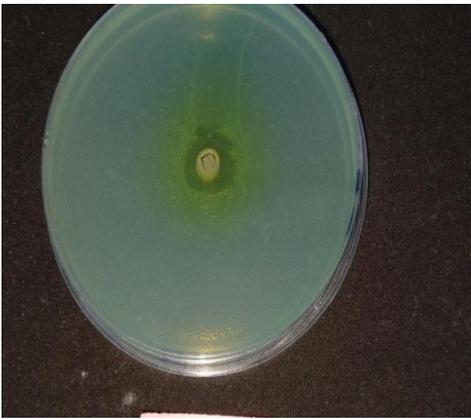
Pour évaluer l'activité antimicrobienne, nous avons d'abord testé l'extrait aqueux de l'écorce de citron vert seul, puis l'extrait aqueux de la résine de *Boswellia* seul, et enfin la synergie entre les deux. Nous avons réalisé une étude *in vitro* en utilisant la méthode de diffusion en puits AWDT (**Barefoot & Klaenhammer, 1983**) sur un milieu gélosé solide, le Mueller-Hinton, couramment utilisé pour les tests d'antagonisme. L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits contenant les différents extraits, testés contre des souches de microorganismes provenant de la collection du laboratoire LMBAFS, incluant les germes pathogènes *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* et *C. albicans*. La méthode de diffusion en puits AWDT est une technique fondamentale pour étudier l'effet antimicrobien d'une substance. Les résultats montrent l'activité antimicrobienne de l'extrait de l'écorce de citron vert, de l'extrait aqueux de résine de *Boswellia*, et de leur combinaison synergique contre les germes pathogènes *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* et *C. albicans*.



Candida albicans



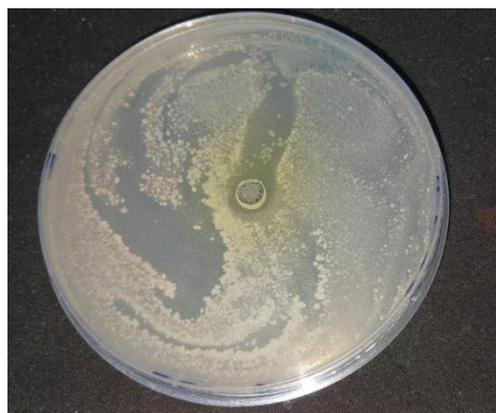
E. coli



Pseudomonas aeruginosa



Staphylococcus aureus



Bacillus cereus

Figure 17. Résultat de l'activité antimicrobienne d'extrait aqueux de l'écorce de *C. aurantiifolia* contre les cinq souches utilisées (photos prises au laboratoire).

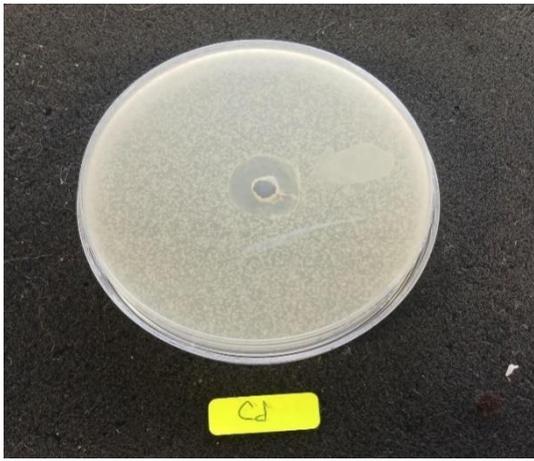
Tableau IV. Effet antimicrobien de l'extrait aqueux d'écorce de *Citrus aurantiifolia* sur les souches bactériennes

	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Extrait aqueux d'écorce du <i>Citrus aurantiifolia</i>	+	++	+++	++	+

L'effet du produit antibactérien sur la cible est évalué par la zone d'inhibition : sensible (+) pour une petite zone d'inhibition avec des diamètres de 8 à 14 mm, très sensible (++) pour une zone d'inhibition moyenne avec des diamètres de 15 à 19 mm, et extrêmement sensible (+++) pour une zone d'inhibition très importante avec des diamètres supérieurs à 20 mm.

Les résultats de notre étude indiquent que l'écorce de citron vert présente un effet significatif contre les germes pathogènes utilisés. L'évaluation de l'activité antimicrobienne à l'aide de la méthode de diffusion en puits AWDT a montré que les extraits aqueux de l'écorce de citron vert possèdent une capacité inhibitrice contre ces souches bactériennes. Les souches bactériennes *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* testées sont sensibles vis-à-vis de l'écorce de citron vert. De plus, les souches *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* se révèlent très sensibles, tandis que la souche *Escherichia coli* est extrêmement sensible.

Les résultats de la majorité des études montrent que l'extrait aqueux de citron vert possède une certaine activité antibactérienne sur tous les agents pathogènes testés. Cette activité est attribuée aux composants phytochimiques de l'écorce (Cakir *et al.*, 2004).



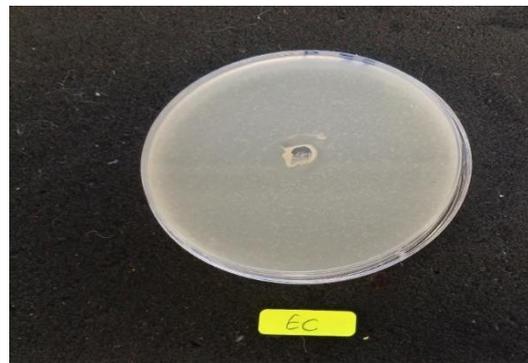
Candida albicans



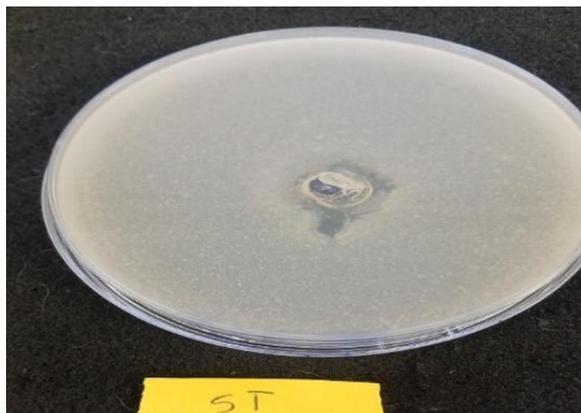
Bacillus cereus



Pseudomonas aeruginosa



E. scherichia coli



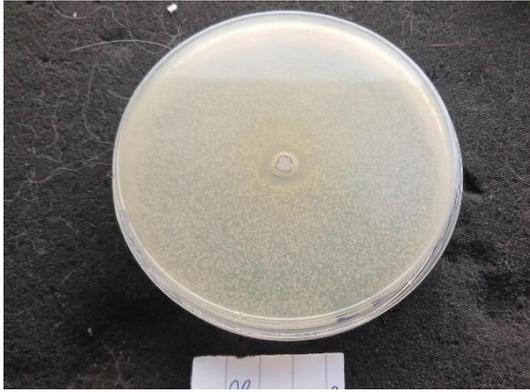
Staphylococcus aureus

Figure 18. Résultat de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Boswelia* résine contre les cinq souches utilisées (photos prises au laboratoire)

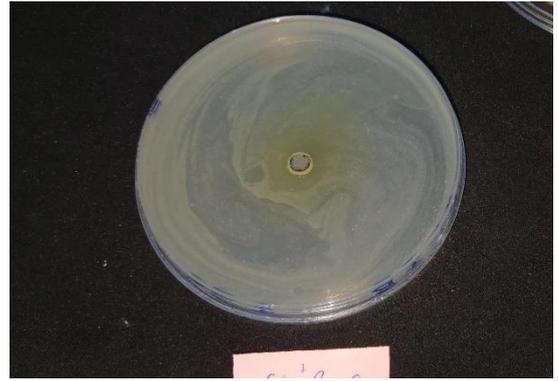
Tableau V. Effet antimicrobien de l'extrait aqueux de la résine d'encens sur les souches bactériennes

	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
L'extrait aqueux de la résine d'encens	++	+++	++	++	++

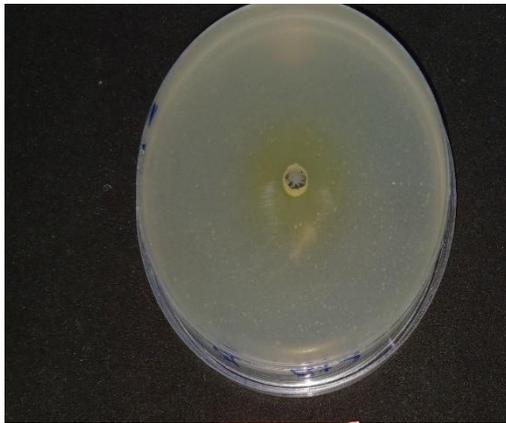
Les résultats de notre étude indiquent que la résine d'encens présente un effet significatif contre les germes pathogènes utilisés. L'évaluation de l'activité antimicrobienne à l'aide de la méthode de diffusion en puits (AWDT) a montré que les extraits aqueux de la résine d'encens ont une capacité inhibitrice contre ces souches bactériennes. Les souches bactériennes *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Candida albicans* testées sont très sensibles vis-à-vis de la résine d'encens étudiée. Nous avons également constaté que la souche *Staphylococcus aureus*, une bactérie pathogène responsable d'une gamme d'infections allant des infections cutanées mineures aux infections graves et potentiellement mortelles telles que les infections sanguines et les pneumonies, est extrêmement sensible grâce aux composés bioactifs présents dans l'encens, tels que les acides boswelliques et les terpènes.



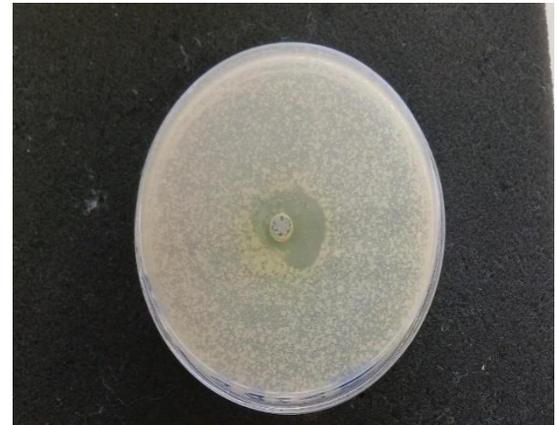
Candida albicans



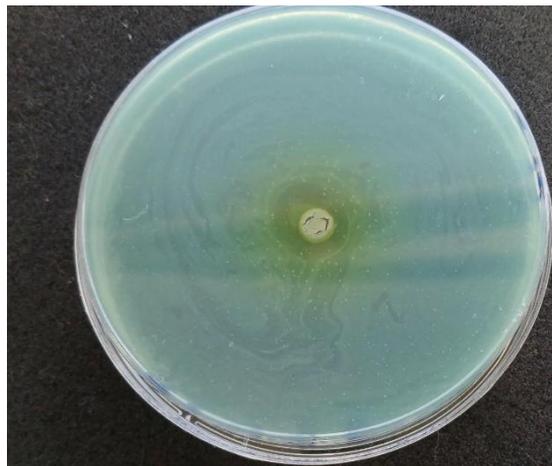
Staphylococcus aureus



Escherichia coli



Bacillus cereus



Pseudomonas aeruginosa

Figure 19. L'activité antimicrobienne de la synergie entre l'extrait aqueux de résine d'encens et l'écorce de citron vert

Tableau VI. Effet antimicrobien de de la synergie entre l'extrait aqueux de résine d'encens et l'écorce de citron vert sur les souches bactériennes

	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
L'extrait aqueux de résine d'encens combinée a l'écorce de citron vert	+++	++	++	++	++

Les résultats de notre étude indiquent que la synergie entre l'extrait aqueux de résine d'encens et l'écorce de citron vert présente un effet significatif contre les germes pathogènes utilisés. L'évaluation de l'activité antimicrobienne à l'aide de la méthode de diffusion en puits (AWDT) a montré que cette combinaison a une capacité inhibitrice contre plusieurs souches bactériennes. Les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, et *Candida albicans* testées sont très sensibles à la synergie de la résine d'encens et de l'écorce de citron vert. Nous avons également constaté que la souche *Bacillus cereus*, une bactérie qui produit des toxines pouvant provoquer des symptômes d'intoxication alimentaire, notamment des nausées, est extrêmement sensible à cette combinaison. Cela est attribué aux composés bioactifs présents dans l'encens, tels que les acides boswelliques et les terpènes, ainsi qu'aux composés actifs présents dans les huiles essentielles de citron vert, tels que le limonène, le citral et le linalol.

Dans l'ensemble, bien que la résine d'encens et l'écorce de citron vert puissent individuellement présenter des propriétés antibactériennes, c'est la synergie entre ces deux extraits qui montre une efficacité particulièrement marquée contre *Bacillus cereus*.

Tableau VII. Diamètre de la zone d'inhibition

Bactéries	Extrait aqueux de la résine d'encens	Extrait aqueux d'écorce de <i>citrus aurantiifolia</i>	L'extrait aqueux de résine d'encens combinée à l'écorce de <i>citrus aurantiifolia</i>
<i>Bacillus cereus</i>	18	11	21
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	17	15
<i>Escherichia coli</i>	18	20	19
<i>Candida albicans</i>	18	16,83	17,20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	14	15

Les résultats de notre étude indiquent que les trois extraits (résine d'encens, écorce de citron vert, et la combinaison résine d'encens et écorce de citron vert) présentent un effet significatif contre les germes pathogènes *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, et *C. albicans*. L'évaluation de l'activité antimicrobienne à l'aide de la méthode de diffusion en puits (AWDT) a montré que les extraits aqueux des trois préparations ont une capacité inhibitrice contre ces souches bactériennes.

Nous avons observé que le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait aqueux de la combinaison résine d'encens et écorce de citron vert est plus grand que celui des autres extraits. En comparaison avec les travaux antérieurs, l'activité antibactérienne de l'extrait de résine d'encens contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* était de 18 mm, 21 mm, et 17 mm respectivement. En revanche, elle était de 11 mm, 17 mm, et 14 mm respectivement pour l'extrait aqueux de *citrus aurantiifolia*. En comparant nos résultats à ceux de la littérature, nous observons que les diamètres de notre étude sont supérieurs à ceux obtenus par **Riyad et al., (2020)**. Cette différence pourrait être attribuée aux différences dans la composition chimique des deux extraits, ainsi qu'aux propriétés d'extraction des solvants utilisés.

De plus, nos résultats mettent en lumière le potentiel de la résine d'encens et de l'écorce de citron vert comme agents antimicrobiens naturels contre les infections

bactériennes. La résine d'encens est réputée pour ses propriétés antimicrobiennes et antiseptiques. Elle a été utilisée traditionnellement pour purifier l'air et prévenir les infections. Les composés volatils libérés lors de la combustion de la résine d'encens peuvent aider à éliminer les bactéries présentes dans l'air.

D'autre part, l'écorce de citron vert contient des composés tels que le limonène, qui ont démontré des activités antimicrobiennes dans diverses études scientifiques. Le limonène est efficace contre de nombreux types de bactéries, notamment les souches pathogènes. En combinant la résine d'encens et l'écorce de citron vert, nous pouvons potentiellement créer une synergie d'activité antibactérienne. Les composés présents dans chaque plante pourraient agir en synergie pour renforcer leurs effets thérapeutiques, offrant ainsi une approche complète pour le traitement des maladies infectieuses.

Conclusion Et Perspectives

Les dosages de polyphénols ont révélé que les trois extraits étudiés, à savoir la résine d'encens, l'écorce de citron vert, et leur combinaison, contiennent des quantités significatives de ces composés bioactifs. L'extrait combiné d'écorce de citron vert et de résine d'encens affiche la plus forte concentration en polyphénols, suivi par l'extrait d'écorce de citron vert et l'extrait de résine d'encens. En ce qui concerne les flavonoïdes, l'extrait brut d'écorce de citron vert présente la concentration la plus élevée, suivi par l'extrait combiné, et enfin l'extrait de résine d'encens seul. Ces résultats suggèrent que la combinaison de ces extraits potentialise l'activité antioxydante, offrant ainsi une synergie bénéfique pour la santé.

L'évaluation de l'activité antibactérienne à l'aide de la méthode de diffusion en puits (AWDT) a révélé que la combinaison de résine d'encens et d'écorce de citron vert présente la plus grande zone d'inhibition, indiquant une efficacité supérieure contre plusieurs germes pathogènes tels que *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, et *C. albicans*. Cette synergie semble augmenter l'activité antimicrobienne des composés présents dans chaque extrait, notamment les acides boswelliques, les terpènes, et le limonène, qui sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes.

Ces résultats, supérieurs à ceux obtenus par d'autres études, mettent en lumière l'efficacité accrue de la synergie entre la résine d'encens et l'écorce de citron vert. L'association de ces deux extraits pourrait offrir une alternative naturelle aux antibiotiques traditionnels, réduisant ainsi le risque de résistance aux antimicrobiens et limitant les résidus chimiques dans les produits animaux.

Les perspectives futures incluent l'optimisation des formulations à base de résine d'encens et d'écorce de citron vert, la réalisation d'études cliniques pour évaluer leur sécurité et efficacité, l'investigation des mécanismes d'action des composés bioactifs, le développement de nouveaux produits vétérinaires et pharmaceutiques, et l'évaluation de l'impact écologique et économique de l'utilisation de ces extraits naturels. Ces initiatives visent à exploiter pleinement le potentiel de la résine d'encens et de l'écorce de citron vert comme alternatives naturelles aux antibiotiques traditionnels, contribuant ainsi à la lutte contre la résistance antimicrobienne et à la promotion de pratiques durables dans l'industrie laitière et au-delà.

REFERENCES

A

Abdel-Tawab, M., Werz, O., & Schubert-Zsilavec, M. (2011). *Boswellia serrata*: an overall assessment of in vitro, preclinical, pharmacokinetic and clinical data. *Clinical pharmacokinetics*, 50, 349-369.

Ahmed, Amal F., Ali, El-Sayed H., Dessouki, A. A. (2013). "Evaluation of the antioxidant activity of some plant extracts on human skin fibroblast cells." *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 16(15), 755.

Aksamija, A. (2012). Etude chimique des matériaux résineux: oliban, dammar et mastic: application à des prélèvements artistiques et archéologiques (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).p34

Al-Harrasi, A., Al-Saidi, S., & Al-Amri, I. (2004). Medicinal and biological value of Omani frankincense from *Boswellia sacra* Flueck. *Natural Product Research*, 18(6), 493–497.

Al-Said, Mansour S., Ageel, A. M., Parmar, N. S., Tariq, M., Al-Yahya, M. A., Rafatullah, S., Ginnawi, O. T., Khan, H. A. (2011). "Anti-inflammatory, antinociceptive, antipyretic and antioxidant activities of the resin glycoresinolates of *Boswellia serrata*." *Pharmaceutical Biology*, 49(7), 669-675.

Al-Tamimi, M., Foudah, A. I., Alam, A., Mohamed, M. E. (2018). "Antibacterial and antifungal effects of citrus peel extracts." *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70 (8), 2018, 1022-1030.

Al-Yasiry, A. R. M., &Kiczorowska, B. (2016). Frankincense—therapeutic properties. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 70, 380-391.

Ammon, H. P. (2016).Boswellic acids in chronic inflammatory diseases. *Planta medica*, 82(08), 591-591.

Amoah, M. O., Abban, S. P., Obeng, S., Osei, D. A., Acheampong, A. (2007). "Chemical constituents of the stem bark of *Boswellia dalzielii* Hutch. (Bursaceae)." *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 11(4), 93-95.

B

Bahorun, T., Grinier, B., Trotin, F., Brunet, G., Pin, T., Luncky, M., Vasseur, J., Cazin, M. ., Cazin, C., and Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), 1086-1089. <https://doi.org/10.1002/elsc.202100167>

Bardeau F, 2009. Les huiles essentielles. Édition LANORE, Paris, France. P 85.

Barefoot, S. F., &Klaenhammer, T. R. (1983). Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental microbiology*, 45(6), 1808-1815.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A. D. R. J., & Del Rio, J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food chemistry*, 68(4), 457-462.

Bhandari, L., and Rajbhandari, M. (2014). Isolation of quercetin from flower petals, estimation of total phenolic, total flavonoid and antioxidant activity of the different parts of *rhododendron arboreum smith*. *Scientific World*, 12, 34–40.

Bodeker, G., Ong, C. K., Grundy, C., Burford, G., & Shein, K. (2021). WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine. World Health Organization.

Broadasky TF, Lewis C & Ble TE - Doumandji A, Hellal A & Saidi N - Hwanhlem N, Bruneton J., (1999). Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier. 1120.

C

Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Izumi, S., & Hirata, T. (2004). Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(1), 62-68.

Chaalel, A., Boukezzoula, N., Belhocine, M., Tefiani, C., & Riazi, A. (2017). Antagonistic activity of *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS and some *Bifidobacterium* sp against *Shigella sonnei*. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 7(2).

Collectif; « Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins »; Edition Larousse ;(2001).

D

DE BOISDEFFRE, P. I. E. R. R. E. (1981). DICTIONNAIRE ENCYCLOPEDIQUE LAROUSSE.

Dupéron J. (1979). «Contribution à l'étude de *Boswellia sacra*: anatomie de la plantule et de la tige agée», Bulletin du Musée national d'Histoires Naturelle, Paris, 4e (1), sect. B, 3, p. 171-189.

E

Ene, A. C., Muhammad, H. L., Sule, M. I., Abdurrahman, E. M., Pateh, U. U., Ambi, A. A., Hassan, S. W. (2013)."In vitro antimicrobial activity and preliminary phytochemical screening of methanolic extract of *Boswellia dalzielii*." *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(14), 868-872.

G

Gao, X., Huang, Y., Jiang, Y., Zhang, D., Zhao, Y., Hou, J., Ding, L., Wei, Y., Ding, X. (2011). "Screening for potential α -glucosidase and α -amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes." *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 573-577.

García-Díaz, M., Lozano-Sánchez, J., Giampieri, F., Afrin, S., Pateiro, M., Munekata, P. E. S., ... & Lorenzo, J. M. (2021). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from organic fennel, parsley, and lavender from Spain. *Foods*, 10(4), 757.

H

Haddad Soheyb, M. H. (2017). Etude de la diversité des insectes auxiliaires (coléoptères carabiques) dans un verger d'agrumes de la région de Guelma. P3.

Hepper N. (1969). «Arabian and African frankincense trees», *Journal of Egyptian Archaeology*, 55, p. 66-72.

Hu, Q., & Luo, Y. (2016). Polyphenol-chitosan conjugates: Synthesis, characterization, and applications. *Carbohydrate polymers*, 151, 624-639.

Huang, Y. J., Akbari, H., Taha, H., & Rosenfeld, A. H. (1987). The potential of vegetation in reducing summer cooling loads in residential buildings. *Journal of Applied Meteorology and Climatology*, 26(9), 1103-1116.

Huet R. 1991. Les Huiles essentielles d'agrumes = Essential oils of Citrus fruits. Technologie d'extraction: extraction mécanique, distillation, extraction au solvant, déterpénération. Composition chimique: huiles essentielles de zeste, de feuilles, de fleurs. *Fruits*, 46(5): 551-576.

Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., Tani, A., & Maneerat, S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22(3-4), 401-407.

K

Karumi Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract. *Journal of Medical Sciences*, 4 (3), 179-182.

khailzadeh, P. (2009). Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum sensing. Thèse de doctorat : Microbiologie. Toulouse : université de Paul Sabatier, 328p.

Kishor, G. K., Pande ,S. et Podile, A.R. (2005). Biological control of late leaf spot of Peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *The American Phytopathological Society*, 95, 1157- 1165.

Kumar, Sanjeev, Kumar, Rajesh, Dwivedi, Shridhar, Pandey, H. K. (2014). "Antioxidant and antimicrobial activity of *Gaultheria procumbens* L. leaves extracts." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(2), 184-188.

Kyriakou V, Garagounis I, Vourros A, Vasileiou E, Stoukides M, 2020. An electrochemical haber-bosch process. 4 (1), 142-158.

L

LadohYemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., Djembissi Talla, R.P., LentaNdjakou, B., Mpondo, E., Yinyang, J., Wansi, J.D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmantheracapitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*. 84: 7636– 7643.

Li HB , Cheng KW , Wong CC, Fan KW, Chen F, Jiang Y. (2007).Évaluation de la capacité antioxydante et du contenu phénolique total de différentes fractions de microalgues sélectionnées. *Chimie alimentaire* 102 (3), 771-776.

Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American journal of clinical nutrition*, 78(3), 517S-520S.

M

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.

Martí, N., Mena, P., Cánovas, J. A., Micol, V., Saura, D., & Márquez-Ruiz, G. (2006).Antioxidant activity of individual compounds in the phenolic fraction of virgin olive oil determined by the DPPH assay. *Food Chemistry*, 99(4), 717-724.

Ménat E. (2000). Practical dictionary of dietetics; the golden rules of eating well. Edition Grancher. 527, 306-311.

MOURI, F., & BOUZID, S. Remerciement.

Moussaieff, A., Shohami, E., Kashman, Y., Fride, E., Schmitz, M. L., Renner, F., & Mechoulam, R. (2008).Incensole acetate, a novel anti-inflammatory compound isolated from *Boswellia* resin, inhibits nuclear factor- κ B activation. *Molecular Pharmacology*, 75(6), 1291–1300.

Mozaffari-Khosravi, H., Naderi, Z., Dehghan, A., & Nadjarzadeh, A. (2019). The effect of lemon on health-promoting indices: a review. *Journal of Environmental and Public Health*, 2019.

Murthy, K. N. C., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2013). Citrus limonoids and curcumin additively inhibit human colon cancer cells. *Food & function*, 4(5), 803-810.

N

Nicole, M. (1997). De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. *Ed: Lavoisier, Paris*, 12-14.

O

Olsen, k.m., hehn, a., jugdé, h., slimestad, r., larbat, r., bourgaud, f., lillo, c., 2010. Identification and characterisation of CYP75A31, a new flavonoid 3'5'-hydroxylase, isolated from *Solanum lycopersicum*. *BMC Plant Biol.* 10, 21.

P

Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Gibbs, D. L., Newell, V. A., Meis, J. F., Gould, I. M., ... & Rodriguez-Noriega, E. (2007). Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance study, 1997 to 2005: an 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *Journal of clinical microbiology*, 45(6), 1735-1745.

Pourbaix, M., & Van Rysselberghe, P. (2000). Le Comité International de Thermodynamique et de Cinétique Electrochimiques (CITCE). *Electrochimica Acta*, 45(15-16), XIII-XVI.

R

Rafaela G, Lillian B, João C.M, Ana Maria C, Isabel C.F.R. (2010). Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. *Food and Chemical Toxicology*. 48, 99–10.

REMY.D, (2010). Les mammites. Guides France agricole.259pp.

Riyad, Y. M., Barakat, H. A., & Amer, S. A. (2020). Evaluation of the properties of frankincense powder and its water extracts and the effect of its addition on guava nectar characteristics. *Egyptian Journal of Food Science*, 48(1), 159-171.

rüdiger A.L., Siani A.C., Veiga Junior V.F. (2007). «The Chemistry and Pharmacology of the South America genus Protium Burm. F. (Burseraceae) », *Pharmacognosy Reviews*, 1 (1), p. 93.

S

Safayhi, H. A. S. A. N., Mack, T. H. O. M. A. S., Sabieraj, J. O. A. C. H. I. M., Anazodo, M. I., Subramanian, L. R., & Ammon, H. P. (1992). Boswellic acids: novel, specific, nonredox inhibitors of 5-lipoxygenase. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 261(3), 1143-1146.

Siddiqui, M. Z. (2011). Boswellia serrata, a potential anti-inflammatory agent: an overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(3), 255–261.

Siham, M, 2015.caractérisation des huiles essentielles de citron feuille fruits de la région douargla (Doctoral dissertation).p5

Silva, L. C. C. E., David, J. M., Borges, R. D. S., Ferreira, S. L., David, J. P., Reis, P. S. D., & Bruns, R. E. (2014). Determination of flavanones in orange juices obtained from different sources by HPLC/DAD. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2014(1), 296838.

Singh, S., Khajuria, A., Taneja, S. C., & Khajuria, R. K. (2011). Boswellic acids: A leukotriene inhibitor also effective through topical application in inflammatory disorders. *Phytomedicine*, 18(2–3), 177–180.

Sowemimo, Abimbola, Fakoya, F. A., Awopetu, I., Omobuwajo, O. R., Adesanya, S. A. (2009). "In vitro evaluation of the interaction between the crude ethanolic extracts from *Boswellia dalzielii* (Burseraceae) and some antibacterial agents." *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 3(3), 224.

Swingle W.T., 1943. The botany of citrus and its wild relatives of the orange subfamily. *The Citrus Industry*, 1. 415p.

T

Tchuendem, M. H., Kuete, V., Mbaveng, A. T., Penlap, B. V., Ngameni, B., Tangmouo, J. G. (2016). "Antibacterial activity and mechanisms of action of natural products isolated from African medicinal plants." *Medicines*, 3(1), 8.

Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 8(3), 207-217.

Thierry, G., Athanasopoulos, P., Wiggett, A., Dering, B., & Kuipers, J. R. (2009). Unconscious effects of language-specific terminology on preattentive color perception. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(11), 4567-4570.

Y

Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology*, 3(12), 10-14.

Yaqoob, M., Aggarwal, P., Aslam, R., & Rehal, J. (2020). Extraction of bioactives from citrus. *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*, 357–377.