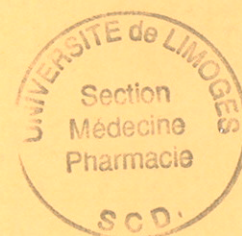


UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE ~~2003~~-2004

THESE N° 315/1

L'ORANGER AMER :
***Citrus aurantium var. amara* Link**

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 11 juin 2004

PAR

Isabelle CERDAGNE
Née le 22 avril 1977
à Saint-Denis de la Réunion

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 147178 6

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur Albert CHULIA..... - Président

Madame Daovy ALLAIS, M.C..... - Juge

Monsieur Antoine ORABONA, Pharmacien..... - Juge

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard
ASSESEURS Madame le Professeur **CHULIA** Dominique
Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

PROFESSEURS

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE - PARASITOLOGIE
BOTINEAU Michel	BOTANIQUE – CRYPTOLOGAMIE
BROSSARD Claude	PHARMACIE GALENIQUE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE – CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACIE GALENIQUE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE – CHIMIE MINERALE
DREYFUSS Gilles	PARASITOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	PHYSIQUE – BIOPHYSIQUE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE – CRYPTOLOGAMIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESH Christian	HYGIENE – HYDROLOGIE – ENVIRONNEMENT
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE – CHEF DES SERVICES
ADMINISTRATIFS

Madame **ROCHE** Doriane

MAITRES DE CONFERENCES

ALLAIS Daovy	PHARMACOGNOSIE
BASLY Jean-philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE
CARDI Patrice	PHYSIOLOGIE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE
COMBY Francis	CHIMIE THERAPEUTIQUE
DELEBASSEE Sylvie	BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE
DREYFUSS Marie-Françoise	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
EA KIM Leng (CLM)	PHARMACODYNAMIE
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE
JAMBUT Anne Catherine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
LAGORCE Jean-François	CHIMIE ORGANIQUE
LARTIGUE Martine	PHARMACODYNAMIE
LIAGRE Bertrand	SCIENCES BIOLOGIQUES
LOFTI Hayat	TOXICOLOGIE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MOREAU Jeanne	IMMUNOLOGIE
PARTOUCHE Christian	PHYSIOLOGIE
ROUSSEAU Annick	BIOMATHEMATIQUE
SIMON Alain	CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINERALE
TROUILLAS Patrick	BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
VIANA Marylène	PHARMACIE GALENIQUE
VIGNOLES Philippe	INFORMATIQUE

ASSISTANT

PROFESSEUR CERTIFIE

MARBOUTY Jean-Michel ANGLAIS

ATER

BELLET Virginie

DUCHIRON Cécile

Remerciements

A mes parents,

Sans lesquels je n'aurais pas pu arriver au bout de mon cursus universitaire.

*Ils ont pu m'offrir les conditions d'existence nécessaires à toute réussite
scolaire, loin des éternels embarras de la vie quotidienne ;*

*Je leur suis infiniment reconnaissante de m'avoir soutenue lors des moments
difficiles.*

*Maman, Papa, merci d'avoir cru en moi et de m'avoir permis d'avoir un
métier socialement valorisant.*

A Koh,

*Compagnon de route de mes années universitaires, qui a permis à cette thèse
de voir le jour.*

*Merci d'avoir accordé du temps à la frappe de toutes ces lignes, ce qui m'a
grandement aidé.*

Je dédie ma thèse à mon ami de cœur, Cyril.

Sommaire

SUR LA ROUTE DE L'ORANGER AMER.....	9
I.1. HISTOIRE.....	10
I.2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	12
ETUDE BOTANIQUE DE L'ORANGER AMER.....	13
II.1. IDENTITE.....	14
II.2. TAXINOMIE.....	14
II.3. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	15
II.4. CULTURE DE L'ORANGER AMER.....	19
II.5. LES MAUX DE L'ORANGER AMER.....	24
LES DIFFERENTES PARTIES BOTANIQUES UTILISEES	30
III.1. LES FLEURS.....	31
III.2. LES FEUILLES.....	33
III.3. LES FRUITS MURS.....	35
III.4. LES FRUITS IMMATURES.....	40
III.5. CONCLUSION.....	41
CARACTERISTIQUES ET COMPOSITION CHIMIQUE DES TROIS PARTIES DE L'ORANGER AMER ET DE LEURS PRODUITS DERIVES.....	43
IV.1. LES HUILES ESSENTIELLES.....	44
IV.2. CONSTITUANTS AUTRES QUE L'HE PRESENTS DANS LES TROIS ORGANES BOTANIQUES DE L'ORANGER AMER.....	126
IV.3. CONCLUSION.....	138
LES PROPRIETES BIOLOGIQUES DE L'ORANGER AMER.....	140
V.1. ACTION ADRENERGIQUE.....	141
V.2. ACTION VEINOTONIQUE – VASCULOPROTECTRICE.....	150
V.3. ACTION ANTIMICROBIENNE.....	151
V.4. ACTIVITE ANTIMUTAGENE.....	153
V.5. EFFETS SEDATIFS ET ANXIOLYTIQUES.....	160
V.6. ACTIVITES ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANALGESIQUE.....	166
V.7. CONCLUSION.....	172
LES DIFFERENTS DOMAINES D'UTILISATION DE L'ORANGER AMER ET DE SES PRODUITS D'EXTRACTION	174
VI.1. LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE.....	175
VI.2. LES DOMAINES DE LA PARFUMERIE ET DE LA COSMETOLOGIE.....	195
VI.3. LE DOMAINE AGRO-ALIMENTAIRE.....	197
VI.4. USAGES RITUELS.....	201
CONCLUSION.....	202
BIBLIOGRAPHIE.....	204
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX.....	211
TABLE DES MATIERES.....	213

Liste des abréviations

ACV : acide valproïque.
AFNOR : Agence Française de Normalisation.
AM : orange amère.
CCM : chromatographie sur couche mince.
CDZ : chlordiazépoxyde.
Ci. au. : *Citrus aurantium*.
Cp : comprimé.
CPG : chromatographie en phase gazeuse.
DL₅₀ : dose létale pour 50% d'une population.
DZP : diazépam.
ECG : électrocardiogramme.
ED₅₀ : dose effective pour 50% d'une population.
EH : extrait hydroéthanolique.
FA : fraction aqueuse.
FD : fraction dichlorométhanolique.
FDA : Food and Drug Administration.
FH : fraction hexanique.
FPP : pyrophosphate de farnésyle.
Fr : fraction.
GPP : pyrophosphate de géranyle.
HE : huile essentielle.
HPLC : chromatographie liquide haute pression.
IMAO : inhibiteur de la monoamine oxydase.
IPP : pyrophosphate d'isopentényle.
JOA : jus d'orange amère.
RMN : résonance magnétique nucléaire.
SC : sous-cutané.
UV : ultra-violet.



Citrus aurantium var. *amara* Link.

Introduction

« Il ne me semble pas que dans tout le jardinage il y ait rien de si aisé que la culture des orangers »

Ainsi s'exprimait Jean-Baptiste De la Quintinie, jardinier du roi Louis XIV dans un célèbre traité sur la culture de l'oranger amer, rédigé pendant la première moitié du XVII^{ème} siècle et publié de manière posthume en 1960, trois siècles plus tard. Aussi ne s'étonne-t-on pas de voir la culture de l'oranger amer proliférer et celui-ci intéresser de nombreux domaines de la recherche (De la Quintinie J.B.).

L'introduction de l'oranger amer en Europe date de l'époque des croisades (XI^{ème} et XII^{ème} siècles)(Boullard B., 2001). Son exotisme, lié à son origine géographique, a très certainement contribué à sa popularité. En effet, l'oranger amer est un bel arbrisseau épineux pouvant atteindre 6 à 7 mètres de hauteur, aux feuilles vert brillant, à pétiole ailé et aux fleurs blanches et odorantes. Le contempler, c'est se retrouver au cœur du Maghreb ou de la péninsule ibérique (Bezanger-Beauquesne L., et al., 1980). Parler de lui en France, c'est également évoquer la Corse, le littoral méditerranéen, les Alpilles, là où le climat est le plus propice à son développement (Gontier J.).

Mais au-delà de ces considérations poétiques, l'attrait pour l'oranger amer réside surtout en ses différentes applications dans des domaines aussi variés que l'industrie pharmaceutique, l'agro-alimentaire, la parfumerie, la cosmétique. Chez cette espèce végétale, les trois organes principaux utilisés sont les fleurs, les feuilles et les fruits, offrant ainsi un plus vaste choix d'utilisation de la plante sous forme fraîche ou sèche pour les différents organes ou bien sous forme d'huiles essentielles, de concrètes, d'absolues.

Notre intérêt pour cette espèce végétale vient du fait qu'elle a su garder son attrait depuis qu'elle est connue des hommes et surtout dès lors qu'elle fut introduite en Europe. D'ailleurs, l'engouement pour cet arbre est très ancien puisque la mythologie grecque y faisait référence dans le jardin des Hespérides. Et bien qu'en pharmacie l'utilisation des anciennes formes galéniques sont désuètes, des recherches récentes dans les domaines agro-alimentaire ou pharmaceutique prouvent que l'oranger amer suscite toujours de l'intérêt. Pourquoi ? C'est ce que nous allons tenter de comprendre au cours de cette étude.

Aussi, dans une première partie, nous retracerons l'histoire de l'oranger amer en le resituant géographiquement et en évoquant son introduction en Occident. Dans une deuxième partie, nous nous attacherons à son étude botanique. Puis, en troisième partie, il sera question des différentes parties botaniques exploitées chez l'oranger amer, lesquelles donneront lieu dans un quatrième chapitre à l'étude de leur composition chimique. Ceci permettra d'aborder les propriétés pharmacologiques de la plante en cinquième partie, et en dernier lieu d'étudier les différentes utilisations de l'oranger amer.

Il est maintenant temps de s'attarder en détail sur cet arbre mythique...

1^{er} chapitre

Sur la route de l'oranger amer

I.1. Histoire.

L'oranger amer pourrait avoir une origine très ancienne si l'on admettait que les pommes d'or du célèbre jardin des Hespérides (le jardin des Dieux) n'étaient autres que les fruits de cet arbre.

La légende grecque raconte que ces pommes d'or furent offertes par Gaïa, la déesse de la Terre, à la déesse Héra lors de sa première union avec Zeus.

Ces fruits, qui avaient le pouvoir de rendre immortel quiconque les goûtait, attisaient la convoitise d'un grand nombre de personnes.

Ainsi, pour protéger ces pommes d'or, Héra fit garder le jardin par des nymphes, les Hespérides, filles d'Atlas (géant révolté contre les dieux et condamné par Zeus à soutenir sur ses épaules la voûte du ciel) et par Ladon, le dragon à cent têtes.

Cependant, toujours d'après la légende, ces fruits furent dérobés par Héraclès (de son nom romain Hercule) au cours de son onzième travail sur ordre d'Eurysthée, roi de Tirynthe.

Ce dernier, après que Héraclès les lui eut rapportés, refusa de prendre les fruits. Ils furent alors offerts à la déesse Athéna qui préféra les restituer aux Hespérides. C'est ainsi que la déesse guerrière devint la déesse de l'oranger.

Il semblerait, d'après certains auteurs que cette légende reste ce qu'elle est : une histoire imaginaire. Les pommes d'or du jardin des Hespérides n'étaient certainement pas les fruits de l'oranger amer. Cependant, l'assimilation à ces fruits peut s'expliquer par le fait que le jardin des Dieux se situant à l'extrémité occidentale de la Terre, le soleil couchant donnait chaque jour une coloration orangée aux pommes d'or.

Ce qu'il y a de sûr, c'est que l'oranger amer a pour origine géographique le Sud Est asiatique (berceau des agrumes, de l'italien « agrumé », dérivé de l'adjectif « agro » signifiant acide).

On le rencontre en Chine, déjà au III^{ème} siècle après JC.

Il y reste un certain temps jusqu'au développement des voies de communication dans le pays qui ont permis sa diffusion dans des contrées voisines : d'abord l'Inde, le Japon, la Perse (ancien nom de l'Iran) puis l'Arabie Saoudite, l'Egypte, la Syrie, la Palestine...

Le Persan Avicenne (980-1037), médecin et philosophe iranien, utilisait le suc des oranges amères. Dans les pays arabes, l'oranger amer est déjà connu dès le X^{ème} siècle. L'arbre est ensuite introduit en Espagne lors de la conquête arabe. Il y fait office d'arbre d'ornement afin de décorer les cours intérieures des palais espagnols (exemple : le patio de los naranjos de la grande mosquée de Séville construite en 976 par le calife Al-Mansur). Dans ce pays, la culture de l'oranger amer s'est surtout répandue en Andalousie.

L'arbre fruitier gagne au XI^{ème} siècle la Sicile et les navigateurs génois et vénitiens l'introduisent en Italie à partir du XIII^{ème} siècle.

Son apparition dans le Sud-Est de la France date de la période des croisades (XI-XIV^{ème} siècles).

La culture de l'oranger amer, au départ timide, prend par la suite un tel essor que les îles au large d'Hyères (ville portuaire du département du Var) prirent le nom d'îles d'or.

Certaines chroniques anciennes mentionnent qu'en 1428 l'orange amère était servi à la table de l'archevêque d'Aix et que le « bon roi René » (1409-1489) en recevait régulièrement en provenance d'Ollioules (ville du département du Var).

Puis, la culture de l'oranger amer finit par s'étendre au reste du monde : Christophe Colomb l'introduisit sur l'île d'Hispaniola (ancien nom de l'île d'Haïti) lors de son deuxième voyage le 22 Novembre 1493 à partir de graines d'oranger provenant des Canaries.

Les Hollandais font pénétrer cet arbre sur le sol sud-africain au XVII^{ème} siècle. Enfin, l'espèce se répand dans les différentes régions du globe là où le climat et la nature du sol sont adaptés à sa culture.

En attendant, pour que cet arbre puisse supporter les caprices climatiques de nos régions tempérées, il est, à l'époque, de bon goût de construire des « logis d'orangers ».

Ainsi, la première orangerie qui date du XV^{ème} siècle est construite à Ambroise. Pratiquement à la même période, le château de Chantilly, résidence des Bourbons, possède un oranger amer qui deviendra légendaire : semé en 1421 à Pampelune par Eléonore de Castille, reine de Navarre, il est offert au connétable de Bourbon (commandant suprême de l'armée française) qui le fait cultiver à Chantilly. En 1523, lorsque François 1^{er} saisit les biens du connétable pour avoir trahi son roi en devenant l'allié de Charles Quint, l'oranger est transporté à Fontainebleau. Louis XIV le fait par la suite transplanter dans l'orangerie du château de Versailles en 1684 où il vécut jusqu'en 1899 avant de s'éteindre au grand âge de 478 ans !

Cet arbre, appelé « Grand connétable », est également connu sous les noms de « Grand Bourbon » et de « François 1^{er} ».

Il existe un autre oranger amer célèbre : celui du couvent Sainte Sabine à Rome. Planté en 1200 par Saint-Dominique, religieux castillan, cet arbre aurait vécu jusqu'en 1811 ! Ses fruits étaient offerts au Pape à chacune de ses visites le mercredi des cendres.

Pour en revenir à nos orangeries, nous pouvons citer à titre d'exemples :

- celles des châteaux de
 - o Sceaux construite en 1670 par le Nôtre sur ordre de Colbert
 - o Meudon et Breteuil
 - o Versailles
- Celles du jardin des Tuileries

Au retour des guerres d'Italie (1494-1559), les rois de France se passionnent pour la culture de l'oranger amer.

En effet, lors d'un voyage en Provence en 1564, Catherine de Médicis, accompagnée de son fils Charles IX, du Duc d'Anjou et du roi de Navarre, s'émerveille de la culture des orangers.

En 1660 Louis XIV, suite à une visite au jardin d'Hyères, fait établir des orangeries dans son domaine, d'abord par Le Vau puis par Jules Hardouin-Mansart (tous deux architectes) lors de l'extension du château de Versailles.

A partir du XIX^{ème} siècle, la culture de l'oranger amer se développe considérablement dans le département des Alpes-Maritimes. Nice est alors une ville d'exportations prospères mais la concurrence des marchés espagnol, sicilien, algérien se fait bientôt sentir.

Quant au substantif orange, lui aussi possède son histoire. Le mot apparaît au XVI^{ème} siècle. Auparavant, vers 1300, il était nommé « pomme d'orange » dont l'origine étymologique d'après les linguistes, serait italienne.

« Pomme d'orange » proviendrait de l'italien ancien « melanracia » (mela : la pomme et arancia : l'orange) qui dérive de l'arabe : « Narandj ». On pense qu'à l'époque les pommes d'oranges désignaient les premières oranges amères venues d'Italie (Brosse J. - Girre L., 1997 - Gontier J.).

I.2. Répartition géographique.

Aujourd'hui, l'oranger amer se cultive principalement dans les régions où le climat et le sol sont propices à son développement :

- l'Italie (plus précisément à l'extrémité méridionale de la péninsule : en Calabre dans la province de Reggio)
- la Sicile (provinces de Palerme, Messine, Syracuse)
- l'Espagne (plus particulièrement dans la communauté autonome d'Andalousie au sud du pays : les jardins de l'Alhambra par exemple)
- l'Afrique du Nord (le Maroc, autour de Meknès et Fès, la Tunisie et plus au sud-ouest, la Côte d'Ivoire)
- le Proche Orient (plus précisément en Israël et au Liban)
- le continent américain représenté par :
 - o l'état de Californie aux Etats-Unis d'Amérique.
 - o le Brésil dans les terres sud-américaines.
 - o les Grandes Antilles avec la Jamaïque, Porto Rico et Haïti.
 - o le Paraguay où la production d'huile essentielle de petitgrain (huile obtenue à partir des feuilles de l'oranger amer) est très importante mais de moins bonne qualité que d'autres pays producteurs car l'espèce utilisée est un hybride de l'oranger amer et de l'oranger doux.

En France, l'oranger amer est également présent. Il se rencontre principalement :

- Dans la région méditerranéenne :
 - o en bordure de littoral depuis Menton jusqu'à Cannes en passant par Monaco, Nice, Antibes, Vallauris.
 - o jusqu'à 350-400 mètres d'altitude au pied des contreforts alpins : Vence, Saint-Paul de Vence, Cagnes.
- Un peu plus à l'est, il est cultivé dans les régions de Hyères, Toulon et Ollioules.
- Sur le littoral corse.
- Dans la région du Roussillon, de Perpignan jusqu'à Port Vendres.

(De Ravel d'Esclapon G. - Giraud N. - Gontier J.)

2^{ème} chapitre

Etude botanique de l'oranger amer

II.1. Identité.

* Dénomination latine : *Citrus aurantium* L. var. *amara* Link.

Citrus vulgaris Risso - *Citrus bigaradia* Duhamel (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

La première dénomination latine reste de loin la plus usitée.

Le nom de cet arbre correspond à l'espèce décrite par Carl von Linné (L) professeur de botanique à Uppsala en Suède (1707-1778).

Cette dénomination repose sur une nomenclature binaire basée sur :

- le genre : *Citrus*
- l'espèce : *aurantium*
- *amara* désignant ici la sous-espèce décrite par Link (Laberche J.C.).

* Etymologie

- *Citrus* → du latin « *citrus* » = cédratier

Le mot est attesté en français depuis 1869.

Il s'agit d'arbres produisant les fruits appelés agrumes (Wolff E.).

- *aurantium* → vient de la couleur orangée des fruits.

- *amara* → vient de l'amertume de ces orangers : du latin « *amarus* »

signifiant amer (Lanzara P., et al.).

* Dénomination commune : Oranger amer

(Michel P.)

Bigaradier

Oranger sauvage

* Dénominations étrangères (Bellakhdar J. - Gontier J) :

- Allemande : *Pomeranzenbaum*
- Anglaise : *Sevilla orange/ Bitter orange*
- Arabe : *Narandj*
- Danoise : *Pomerants*
- Espagnole : *Naranjo*
- Italienne : *Arancio*
- Néerlandaise : *Bittere oranjeappel*
- Portugaise : *Lauransera*
- Suédoise : *Pomerans*

II.2. Taxinomie.

Le terme taxinomie vient du grec « *taxis* » qui veut dire arrangement, ordre. On entend par taxinomie l'étude théorique des bases, lois, règles, principes d'une classification (le nouveau Petit Robert).

Ici, notre but n'est pas d'étudier les fondements qui ont permis d'aboutir à la classification de l'oranger amer.

Nous nous contenterons de situer ce dernier dans le règne végétal.

REGNE	Eucaryotes
SOUS-REGNE	Cormophytes
EMBRANCHEMENT	Rhizophytes
SOUS-EMBRANCHEMENT	Spermaphytes
CLASSE	Angiospermes
SOUS-CLASSE	Dicotylédones
SERIE	Rosidées anciennement Dyalipétales
ORDRE	Rosidées obdiplostémones à ovaire supère et disque nectarifère anciennement Disciflores
FAMILLE	Rutales anciennement Térébinthales d'après L.
SOUS-FAMILLE	Emberger
TRIBU	Rutacées
SOUS-TRIBU	Aurantioïdées
GENRE	<i>Citrae</i>
ESPECE	<i>Citrinae</i> - agrumes
	<i>Citrus</i>
	<i>Citrus aurantium</i> L. var. <i>amara</i> Link (Guignard J.L.)

II.3. Description botanique.

II.3.1. Famille des Rutacées.

Les Rutacées font partie de l'ordre des Rutales.

Cette famille tire son nom de la rue fétide ou *Ruta graveolens*, chef de file des Rutacées. Les espèces de cette famille se présentent sous la forme de buissons ou d'arbres, plus rarement des herbes (*Ruta*) ou des lianes. Leurs feuilles sont alternes, simples ou composées.

Les fleurs sont de type 5 ; elles sont pentamères.

Les fruits, quant à eux, seront divers : capsule, drupe, baie ou samare.

> Caractères d'identification des Rutacées.

Les Rutacées vont pouvoir être identifiées par :

- la présence d'un appareil sécréteur constitué par des poches sécrétrices de type schizolysigène (ce terme sera expliqué ultérieurement) rencontrées dans aucune autre famille.
- la position du disque nectarifère des fleurs, situé à l'intérieur des étamines (position intrastaminale).

> Autres caractères communs.

Les Rutacées produisent des huiles essentielles, des flavonoïdes, des limonoïdes...

Comprenant environ 2000 espèces et 150 genres, les Rutacées se rencontrent principalement dans les zones tempérées et chaudes du globe. Cette famille se subdivise en 7 sous-familles dont une nous concerne plus particulièrement : les Aurantioïdées.

En effet, cette sous-famille renferme les agrumes qui constituent un ensemble d'espèces appartenant au genre *Citrus* dont fait partie l'oranger amer.

Les *Citrus*, arbres de petite taille, résultent d'une longue évolution datant d'avant l'isolement de l'Australie.

Les espèces comestibles, dont nous disposons aujourd'hui, ont été créées à partir d'espèces acides et amères (Dictionnaire de la botanique - Guignard J.L.).

II.3.2. L'oranger amer.

Bel arbrisseau pouvant mesurer jusqu'à 15 mètres de hauteur selon certains auteurs mais dépassant rarement les 6 mètres, l'oranger amer possède des branches épineuses pourvues de feuilles coriaces, vert brillant. Les différentes tailles subies par cet arbre et nécessaires à son développement futur lui confèrent une forme arrondie ; on parle de forme buisson.

Ses fleurs blanches, regroupées par 2 ou 3, dégagent un parfum suave, très agréable.

Quant aux fruits, succédant aux fleurs, ils ont une forme arrondie et sont d'une belle couleur orangée (Dictionnaire de la botanique - Laberche J.C. - Giraud N.).

II.3.2.1. L'appareil végétatif.

II.3.2.1.1. Le squelette de l'arbre.

Il est formé par les racines, le tronc, les branches et les rameaux de l'arbre.

- Le tronc.

C'est la tige principale du végétal. Elle est dure, solide et lisse. On parle de tige ligneuse. Elle est très ramifiée.

De par la forme arrondie de l'arbre, le tronc est réduit en hauteur par rapport aux branches latérales. On parle alors de tronc excurrent. Son écorce est d'un brun grisâtre.

- Les branches et les rameaux.

Ce sont également des tiges ligneuses, mais dans ce cas on parle de ramifications secondaires.

Ces branches sont garnies de fines épines en position axillaire (c'est-à-dire à la base des feuilles) (Bezanger-Beauquesne L., et al., 1980 - Schauenberg P.).

II.3.2.1.2. La feuille.

La feuille du bigaradier est vert brillant, coriace, persistante, simple, à disposition alterne (une feuille par nœud).

Elle est constituée, d'une manière générale d'un limbe (de *limbus* = coin, rebord) et d'un pétiole (de *petiolus* = petit pied).

- Le limbe est entier, à bords droits, de forme ovale, à nervation pennée. Il peut atteindre 5 à 6 cm de long sur 3 à 4 cm de large. Il présente sur sa surface des ponctuations correspondant à des poches sécrétrices schizolysigènes qui forment l'appareil sécréteur. Elle

possède un pédoncule rigide de 5 à 10 mm de longueur. Comment ces poches se forment-elles ? Au départ une cellule parenchymateuse se divise en 2, puis 4 voire davantage. Ces cellules néoformées vont alors se disjoindre et délimiter un méat (à l'origine de la poche) qui va recevoir les sécrétions aromatiques des cellules qui le bordent. Les cellules du bord externe de la poche vont se diviser activement tandis que les cellules les plus internes vont se rompre, libérant leur contenu dans le méat. La cavité va donc augmenter de volume et s'enrichir en sécrétion. Ainsi se forme une poche de type schizolysigène (du grec *schizein* = fendre).

- Le pétiole permet l'articulation du limbe à sa base sur la tige. Il mesure 10 à 12 mm de long pour une largeur de 6 à 7 mm due à sa forme ailée- cordiforme (en forme de cœur).

La présence d'un appareil sécréteur rend la feuille fortement odorante après froissement. Elle est de saveur aromatique et amère.

Après dessiccation, la feuille de bigaradier s'enroule sur elle-même (Giraud N. - Laberche J.C. - Pharmacopée française 10^{ème} édition).



Figure 1 : la feuille du bigaradier.

II.3.2.2. L'appareil reproducteur.

II.3.2.2.1. La fleur.

- Caractéristiques.

Les fleurs de l'oranger amer sont pentamères, actinomorphes, c'est-à-dire de type 5 et symétriques par rapport à l'axe du pédoncule floral.

Formule florale (Weil P.) :

$$5S + 5P + (5+5)nE + 5nC$$

S : sépales

P : pétales

E : étamines en nombre multiple de 5 réparties sur 2 verticilles

C : carpelles en nombre multiple de 5

- Les fleurs.

Elles sont regroupées par glomérule de 2 ou 3 et prennent naissance à l'aisselle des feuilles ; elles sont dites axillaires.

Elles s'épanouissent de la fin avril au début de juin.

Elles sont de couleur blanche et exhalent un parfum aromatique, caractéristique de l'espèce.

Après dessiccation, les fleurs deviennent jaunâtres et moins odorantes.

La fleur peut atteindre 25 mm de long pour un diamètre maximal de 10 mm. Elle possède un pédoncule rigide de 5 à 10 mm de longueur. Ce dernier est surmonté d'un calice court et d'une corolle beaucoup plus haute.

L'ensemble de ces deux pièces forme le périanthe de la fleur d'allure générale oblongue.

- Les sépales.

Ils sont verts ; on dit qu'ils sont sépaloïdes. Ils sont courts, épais, cireux, soudés à leur base (on parle de calice gamosépale).

De par leur disposition et leur aspect extérieur, ils vont donner un calice cupuliforme se terminant par 5 dents aiguës et égales, lui donnant l'aspect d'une étoile.

- Les pétales.

Ils sont blancs, dressés, épais et libres entre eux. On parle de corolle dialypétale.

- Les organes sexuels.

Ils sont constitués par les étamines, les organes mâles, et par les carpelles, les organes femelles (du grec *karpos* = fruit). Ces deux types d'organes sont présents ensemble sur la même fleur, celle-ci est donc hermaphrodite. Les carpelles vont former l'ovaire. Celui-ci repose sur un disque nectarifère surmontant le point d'insertion des étamines : on dit qu'il est supère.

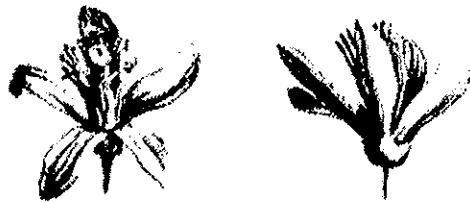


Figure 2 : la fleur du bigaradier.

II.3.2.2.2. Le fruit.

Le fruit de l'oranger amer est une baie globuleuse cloisonnée à peau chagrinée appelée hespéride ou agrume. Elle peut également prendre le nom de bigarade.

Cette baie est rouge orangé à maturité, 7 à 8 cm de diamètre, fort aromatique de saveur amère et acide, ce qui la rend impropre à la consommation.

Le fruit est formé de trois parties constituant le péricarpe :

- Epicarpe = épiderme externe (flavedo).

Il est coriace et comporte de nombreuses poches sécrétrices schizolysigènes contenant l'huile essentielle.

Ces poches sont bien visibles à l'œil nu, colorées en jaune par des caroténoïdes. D'une taille variant de 0,4 à 0,6 mm, elles sont réparties de manière irrégulière.

- Mésocarpe = tissu médian (albedo).

Il forme une couche spongieuse, blanche, mucilagineuse. Il renferme de grandes glandes schizolysigènes à essence. Il est constitué de cellules parenchymateuses polyédriques dans lesquelles sont présents des cristaux d'oxalate de calcium.

Remarque : la flavedo et l'albedo constituent la peau du fruit rugueuse et épaisse encore appelée « écorce » ou « zeste », d'odeur forte, de saveur amère et aromatique.

- Endocarpe = épiderme interne.

Il est formé par les carpelles (« quartiers du fruit »). Il constitue la pulpe du fruit par émission, lorsque le fruit est encore jeune, de poils intracarpellaires renflés, charnus, vésiculeux (Giraud N. - Guignard J.L. - Laberche J.C. - Pharmacopée française 10^{ème} édition).

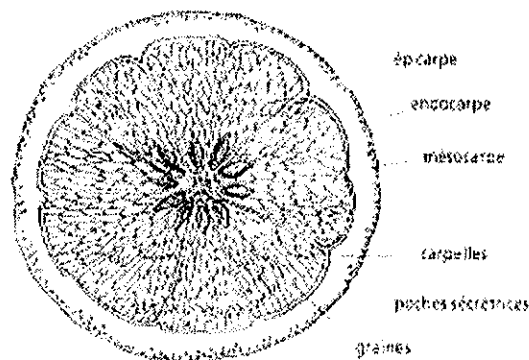


Figure 3 : la baie globuleuse de l'orange amère.

II.3.2.2.3. La graine.

Elle résulte de la transformation de l'ovule après fécondation. Dans chaque carpelle, on trouve une ou plusieurs graines fixées au placenta axile. Ce sont les « pépins ».

Ces graines sont entourées de téguments délimitant un ou plusieurs embryons contenant deux cotylédons.

Ces graines sont exalbuminées, c'est-à-dire dépourvues d'albumen (=substance de réserve) qui a été digéré et les produits de dégradation de l'amidon ont migré vers les cotylédons qui dès lors occuperont un volume important (Dictionnaire de la botanique - Guignard J.L. - Laberche J.C. - Weil P.).

II.4. Culture de l'oranger amer.

La culture du bigaradier nécessite la prise en compte d'un certain nombre de critères afin d'obtenir des conditions optimales pour l'exploitation de cette espèce végétale.

II.4.1. Les conditions climatiques.

L'oranger amer supporte difficilement les grandes amplitudes thermiques. Ainsi, il se développe favorablement en climat tempéré méditerranéen où les températures sont douces l'hiver et chaudes l'été.

Les régions de plantations ne doivent souffrir ni de pluies excessives (néfastes pour l'oranger amer), ni de basses températures (en deçà de -3°C, les fruits disparaissent et des mesures pour lutter contre les gelées doivent alors être prises).

Dans les régions de culture de l'oranger amer, les vents sont très présents et parfois violents :

- La tramontane qui dévaste et détruit.
- Le mistral qui souffle très fort.
- Le libeccio, violent et froid soufflant en Corse.
- Le sirocco provenant de Tunisie et apportant chaleur et sable.
- Les vents du sud-ouest qui apportent la pluie.
- Les vents du nord-est qui apportent un temps sec, froid mais ensoleillé.

Comme pour l'apparition d'éventuelles gelées, l'exploitant agricole devra prendre des mesures de protection vis-à-vis des vents violents.

La culture de l'oranger amer doit avoir lieu à bonne exposition solaire : l'idéal serait l'orientation sud-est afin d'éviter les après-midi excessivement ensoleillés et à une altitude ne dépassant pas 500 mètres.

II.4.2. La nature du sol.

L'oranger amer s'adapte à peu près à tous les types de sol excepté s'ils sont trop calcaires ou trop argileux (répercussion sur les racines et la qualité des fruits).

Cet arbre se développe bien dans des sols de consistance moyenne, bien aérés et bien drainés.

Il faut lutter contre l'excès d'eau au niveau des sols car il provoque l'asphyxie des racines.

Il ne faut donc pas planter dans une terre où la nappe phréatique est à faible profondeur (2 à 3 mètres).

Si les sols sont légers, la croissance du végétal est plus précoce, les racines s'y développent mieux, les fruits sont de meilleure qualité.

Les meilleures terres pour la production de l'oranger amer et des agrumes en général contiennent au moins 5% d'argile, 50% de sable grossier et 5 à 10% de calcaire sans excéder 10% d'argile et 20% de calcaire. Le sol sur lequel est cultivé l'oranger amer doit répondre à certaines exigences chimiques qualitatives et quantitatives.

Il doit comporter des éléments dits majeurs et d'autres éléments dits mineurs (oligoéléments).

- Eléments majeurs.

Azote	2 ‰
Acide phosphorique	0,2 ‰
Potasse	0,2 ‰

L'azote est absolument nécessaire lors des années de formation du végétal. Les deux autres éléments vont agir sur les organes de reproduction et par conséquent sur la formation du fruit.

- **Eléments mineurs.**

Ils sont représentés entre autres par le zinc, le fer, le bore, le manganèse. Ils vont agir sur le métabolisme cellulaire de l'arbre.

La présence de ces éléments chimiques est donc indispensable afin d'établir le milieu de culture le plus satisfaisant pour l'exploitation de l'oranger amer.

Enfin, le pH du sol doit être compris entre 6 et 7, donc légèrement acide.

II.4.3. Le mode de multiplication du bigaradier.

Le bigaradier se multiplie par semis. Celui-ci s'effectue aux mois de Mars, Avril, à la volée, dans une terre riche, meuble, bien aérée et fumée.

Au printemps suivant a lieu l'opération de repiquage,

Elle consiste à transplanter dans le sol des sujets d'au moins 30 cm de hauteur et de 5 à 6 mm de diamètre.

Les plants sont disposés dans la terre à 40 cm de distance sur des lignes espacées de 1 à 1,50 m.

Un an après le repiquage, les jeunes arbres serviront de support à la greffe.

Le greffon prélevé sur le rameau d'un pied mère sain d'oranger amer de culture est un morceau d'écorce avec un œil en son centre. Il faut veiller à ne pas prendre une trop grande quantité de bois (écorce) qui risquerait de contrarier la bonne reprise de la greffe. On procède ensuite à la greffe de l'arbre.

Il existe deux types de greffe qui vont différer selon la forme de l'incision pratiquée dans l'écorce du porte-greffe et destinée à recevoir le greffon.

- greffe à écusson : l'incision effectuée dans le bois est en forme de T.
- greffe en placage : l'incision est en forme de I.

Dans les deux cas, l'incision de l'écorce du porte-greffe est effectuée à environ 30 cm de hauteur sur une partie lisse.

Le greffon est alors positionné. L'ensemble est attaché avec des bandes de raphia humides en ayant pris soin de laisser l'œil apparent. La ligature sera ôtée après trois semaines.

Il existe deux moments dans l'année où la greffe peut avoir lieu :

- en Avril-Mai au moment où l'arbre est en sève. Le greffon est prélevé sur du bois de l'année précédente. Le rameau poussera avant l'hiver. On parle de greffe « à œil poussant ».
- en Juillet. La croissance du rameau n'aura lieu qu'au printemps prochain malgré la soudure effective du greffon qui aura été pris sur du bois de l'année en cours. Cette greffe est dite « à œil dormant ».

II.4.4. La plantation.

Les plants greffés sont plantés à l'automne ou en Mars-Avril après les grands froids.

Lorsque la plantation a lieu à l'automne, les sujets profitent de la chaleur de l'été accumulée dans le sol et développent rapidement des radicelles avant l'arrivée du froid. Cela leur permettra de supporter la rudesse de l'hiver. Les plants greffés ont généralement un an ou mieux deux ans.

II.4.5. La taille des arbres.

Elle a lieu à chaque étape de développement de l'arbre et en fonction du type de taille, sa finalité sera différente.

II.4.5.1. La taille de formation.

Elle a lieu durant les premières années de la vie de l'oranger amer pendant 5 à 6 ans. Elle doit permettre à l'arbre d'acquérir une charpente solide et équilibrée.

Dans un premier temps, la greffe d'un an est taillée à 60 cm de hauteur un mois après sa mise en terre de manière à obtenir rapidement des pousses dont les 3 à 4 plus belles sont conservées, les autres étant raccourcies au mois de Juin.

Au cours de la deuxième année, en Avril, les futures charpentières sont taillées à la moitié pour les faire se multiplier. Les pousses secondaires qui donneront les sous-charpentières seront conservées au cours de la troisième année de taille de formation. Une fois que sa charpente est établie, l'arbre est en mesure de porter les fruits et à ce moment-là intervient le deuxième type de taille.

II.4.5.2. La taille de fructification.

Son principe est basé sur trois observations : la vigueur, la fertilité et l'équilibre.

II.4.5.2.1. La vigueur.

Elle va varier en fonction de la position et de l'inclinaison des organes concernés.

Exemple : les branches supérieures sont plus robustes que les branches inférieures ; il en va de même pour les rameaux de l'extrémité d'une branche par rapport à ceux de la base.

II.4.5.2.2. La fertilité.

C'est la capacité de l'arbre à donner des fleurs. Dans le cas du bigaradier, il a été observé qu'elle est inversement proportionnelle à la vigueur de l'arbre.

II.4.5.2.3. L'équilibre.

Il s'agit de l'état à atteindre entre la vigueur et la fertilité lors de la taille de fructification.

Cette taille qui se pratique tous les ans ou tous les deux ans sur des arbres adultes après la récolte des fleurs (en Juin) a donc pour but d'obtenir une production régulière ainsi que des rameaux de remplacement.

Les rameaux peu vigoureux ou morts ainsi que les gourmands sont supprimés. Les rameaux trop envahissants sont raccourcis.

II.4.5.3. La taille de régénération ou de recépage.

Elle a lieu lorsque les branches qui forment la charpente disparaissent au profit du bois mort ; ceci lorsque l'arbre commence à vieillir ou qu'il a subi les méfaits du froid.

La taille de recépage se pratique de la même manière que la taille de formation mais au lieu de couper la greffe à 60 cm de hauteur, ce sont les charpentières qui le seront à 30 cm de leur point de départ.

II.4.6. La production de l'arbre.

Les premières floraisons apparaissent deux ans après la greffe. L'arbre commence à produire normalement vers l'âge de dix ans et il est à son rendement maximal entre vingt et trente ans.

Les premières fleurs s'épanouissent vers la fin du mois d'Avril et l'efflorescence continue jusqu'au début du mois de Juin.

La production moyenne d'un oranger amer pendant sa vie est de 5 kg de fleurs par an. Cependant, certains arbres bénéficiant de conditions optimales de culture peuvent produire jusqu'à 30 kg de fleurs.

II.4.7. La récolte.

II.4.7.1. Les boutons floraux.

Ils sont récoltés en Mars juste avant le début de leur épanouissement.

II.4.7.2. Les fleurs.

Leur récolte débute fin Avril et continue jusqu'au début du mois de Juin. Elle a lieu le matin et s'effectue soit à la main, soit à l'aide d'une gaule. Les fleurs sont alors récupérées sur des grands draps étendus sous les arbres. Le rendement varie de 5 à 7 kg par arbre.

Une bonne cueilleuse est en mesure de récolter 20 kg de fleurs par jour. Les journées les plus propices à la cueillette sont celles qui sont ensoleillées et chaudes. En effet, lorsque la récolte a lieu par temps nuageux voire pluvieux, les produits d'extraction issus des fleurs sont obtenus à moindre rendement.

La cueillette des fleurs de l'oranger amer exige rigueur et délicatesse de manière à ne pas mêler à la récolte des débris de feuilles ou de pétioles, ceci, afin de ne pas altérer la qualité de l'huile essentielle issue des fleurs.

Remarque : dans les Alpes-Maritimes, la production de fleurs d'oranger amer a considérablement diminué depuis les années 1930 suite à d'importants dégâts causés par les gelées de 1929. Auparavant, les cultures de bigaradier occupaient plus de 300 hectares de terre répartis dans différentes communes du département. Depuis, la superficie occupée par les vergers n'a cessé de régresser et il est difficile de nos jours d'en évaluer l'importance d'autant plus qu'à partir des années 1960 de nombreux terrains ont été vendus à des fins immobilières. Ce que l'on peut dire, c'est que la production de fleurs d'oranger amer qui atteignait 1800 tonnes en 1929 dans les Alpes-Maritimes, a été de 40 tonnes en 1983.

II.4.7.3. Les fruits verts.

Leur récolte a lieu en Octobre-Novembre. Ces fruits verts sont issus du développement des fleurs restées sur l'arbre et ne sont pas arrivés à maturité.

II.4.7.4. Les fruits mûrs.

Ils sont récoltés à partir du mois de Janvier jusqu'à la fin du mois de Février parfois. La cueillette, comme pour les fleurs, s'effectue à la main ou à l'aide d'une gaule.

II.4.7.5. Les feuilles.

Elles sont ramassées en Décembre-Janvier sur les sujets les plus vigoureux. Avant d'être utilisées, elles doivent être séchées à l'air libre, à l'ombre.

II.4.7.6. Les rameaux (brouts).

Lors de la taille des arbres, après la récolte des fleurs en Juin, les rameaux sont récupérés pour être livrés aux usines. Ils serviront alors à la fabrication de l'eau de brouts.

II.5. Les maux de l'oranger amer.

II.5.1. Les parasites de l'arbre.

II.5.1.1. Les acariens.

Ce sont des arachnides (4 paires de pattes et une tête portant un rostre) de très petite taille, souvent invisibles.

On distingue :

- *Aceria sheldoni* : il s'attaque aux jeunes bourgeons floraux et provoquent la déformation des rameaux, des feuilles puis des jeunes fruits.
- Les tétranyques ou araignées rouges : elles sucent la sève et décolorent les feuilles. La peau des fruits devient brune.

Traitement : pulvérisation d'un acaricide spécifique.

II.5.1.2. Les aleurodes.

Ce sont des petites mouches blanches dont il existe deux espèces connues.

Les femelles vont pondre sur les feuilles (entre 2 et 5 générations par an). Les piqûres répétées de ces mouches, qui vont prélever la sève, vont affaiblir les jeunes arbres.

Elles vont également excréter un miellat de consistance cireuse qui va attirer les fourmis et entraîner la formation d'un champignon noir qui provoquera l'asphyxie des feuilles et l'apparition d'une maladie : la fumagine.

Traitement : Utilisation d'huiles blanches de pétrole ou d'un prédateur naturel des aleurodes, un microhyménoptère en provenance du Chili. Les huiles blanches de pétrole sont des huiles minérales provenant de la distillation du pétrole (kérosène, éther de pétrole, fuel-oil, pétrole brut) qui ont été solubilisées par l'oléate d'ammonium (d'où l'adjectif « blanche »). Elles sont efficaces contre les pucerons, les cochenilles et les aleurodes. Ce ne sont pas des insecticides à proprement parler mais des solvants auxquels sont incorporés la plupart du temps des insecticides (Dajoz R.). Dans le traitement de la fumagine, ces huiles blanches sont utilisées seules. Elles permettent la destruction des aleurodes sans nuire aux insectes auxiliaires qui vont pouvoir freiner naturellement non seulement la pullulation des aleurodes mais aussi celle d'autres ravageurs comme les cochenilles, les acariens et les pucerons (Loussert R.).

II.5.1.3. Les cochenilles.

Ce sont des petits insectes ravageurs qui vivent en colonies. Ils envahissent toutes les parties de l'arbre et sécrètent une cire de consistance variable qui va former un bouclier protecteur contre les insecticides.

Ce miellat va attirer les fourmis et entraîner là encore le développement de la fumagine. Ces insectes sont quasi immobiles, il n'y a que les jeunes qui sont mobiles. Il faut donc profiter de cette période où ils se déplacent pour les détruire.

Traitement : lutte biologique grâce à l'utilisation d'une coccinelle ou pulvérisation d'huiles blanches de pétrole.

II.5.1.4. La mineuse.

Il s'agit d'un petit papillon (lépidoptère) qui se développe sur les jeunes pousses. Les œufs sont pondus dans le limbe. Les larves y creuseront des galeries et entraîneront la déformation des feuilles.

Traitement : ramasser les feuilles atteintes et les brûler.

II.5.1.5. La mouche des fruits.

Elle pond ses œufs dans les fruits. Les larves qui en résultent vont se nourrir de la pulpe des bigarades qui vont pourrir et finir par tomber.

Traitement : il faut ramasser et détruire tous les fruits infestés avant que de nouvelles mouches n'apparaissent.

II.5.1.6. Les nématodes.

Ce sont des vers très fins qui vivent dans le sol. Ils vont envahir les racines de l'oranger amer causant de graves dommages : l'arbre jaunit, flétrit et dépérit.

Traitement : utilisation d'un fumigène, avant de planter les arbres, dans un sol meuble et légèrement humide afin de faire pénétrer les produits entre 20 et 40 cm de profondeur. Mais réellement, le seul moyen efficace d'éradiquer les nématodes consiste à arracher tous les arbres de la plantation et à faire désinfecter le sol par une entreprise spécialisée.

II.5.1.7. Les pucerons.

Ce sont des petits insectes vivant en colonies. Ils s'attaquent aux jeunes pousses de l'arbre : les feuilles se dessèchent et s'enroulent. Parfois la partie la plus tendre du rameau peut s'incurver. Les pucerons peuvent sécréter sur le végétal un exudat très apprécié des fourmis, ce qui contribue au développement de la fumagine.

Traitement : utilisation du prédateur naturel des pucerons, la coccinelle.

II.5.1.8. La teigne de l'oranger.

Il s'agit d'un petit papillon. Après avoir pondu, les œufs donnent naissance à des larves qui vont s'attaquer aux boutons floraux et les dévorer.

Traitement : il doit être préventif. Lors de la floraison, il faut pulvériser un produit à base de *Bacillus thuringiensis*.

II.5.2. Les principales maladies de l'oranger amer.

II.5.2.1. Le mal sec.

Cette maladie est provoquée par un champignon vasculaire dont le mycélium va s'introduire par les plaies et les blessures de l'arbre.

La contamination de l'oranger amer se fait par voie aérienne.

La maladie se manifeste par le dessèchement des rameaux : l'écorce brunit, les feuilles se flétrissent et s'enroulent. Il s'ensuit l'asphyxie de l'arbre. Si on coupe un rameau longitudinalement, on observe une coloration saumon caractéristique.

Traitement : il faut tailler l'arbre afin de supprimer les parties atteintes et soigner la plaie avec un mastic fongicide. Les outils de coupe devront être soigneusement désinfectés afin d'éviter une potentielle recontamination.

II.5.2.2. Le mal noir.

Cette maladie est également due à un champignon vasculaire mais cette fois-ci la contamination a lieu par le sol et touche les racines de l'arbre. On observe des symptômes à type de taches noires sur le tronc.

Traitement : il est nécessaire de couper les parties infectées et de traiter la plaie avec un fongicide.

II.5.2.3. L'antracnose des Citrus.

Cette maladie est la conséquence de la propagation d'un champignon se faisant par voie aérienne à partir des organes de reproduction. Le champignon est responsable soit d'un dessèchement des pousses, soit de l'apparition de taches sur les feuilles et les fruits. Parfois le mycélium peut s'introduire dans les tissus ligneux des tiges et provoquer une chlorose des pousses infectées, c'est-à-dire un étiolement et un jaunissement des feuilles par déficience en chlorophylle.

Il en résulte la mort des jeunes branches, le plus fréquemment. Cette infection se développe le plus souvent sur des sujets faibles, cultivés dans un sol carencé.

Traitement : 5 à 6 pulvérisations fines de pesticides doivent être effectuées de Mars à Octobre.

II.5.2.4. La fumagine.

C'est un champignon qui prolifère sur le miellat sécrété par certains insectes piqueurs (aleurodes, cochenilles, pucerons). Il forme une pellicule noire sur les feuilles entraînant la mort de l'arbre en bloquant les fonctions végétatives et respiratoires des feuilles.

Traitement : pulvérisation de produits chimiques à base de cuivre (bouillie bordelaise).

II.5.2.5. Les bactérioses.

Elles sont dues à une bactérie du genre *Pseudomonas* qui cause de nombreux ravages lorsque les années sont humides.

La maladie débute au niveau du pétiole de la feuille pour s'étendre à la feuille entière. Parfois le dessèchement se propage au rameau entier. La bactérie pénètre par des petites plaies formées par le gel ou les outils de coupe.

Traitement : utilisation de produits à base de cuivre. Ce sont les seuls autorisés, l'usage des antibiotiques étant strictement interdit.

II.5.2.6. Les viroses.

Elles sont dues à des virus qui perturbent la nutrition de l'arbre, ce qui contraint les exploitants agricoles à effectuer une supplémentation en fumure azotée de 25% à 30%. Ces maladies vont porter atteinte à la rentabilité de la culture.

Parmi les viroses, la plus dangereuse est la tristezza car elle entraîne la mort de l'arbre à tous les coups.

En effet, lorsque l'oranger amer en est atteint, la seule solution est de l'arracher. Le sol doit ensuite être désinfecté.

Remarque : il s'agit d'une maladie de quarantaine à l'importation. Les plants sont donc soumis à un contrôle rigoureux.

II.5.3. Les carences de l'oranger amer.

Une insuffisance ou une absence d'apport en substances nutritives indispensables au développement de l'arbre (oligo-éléments) peut entraîner une malformation, voire une dégénérescence de chaque partie constitutive du végétal.

Concernant les 6 principaux oligo-éléments :

- **Carence en cuivre.**

Causes : Sols légers, acides, riches en phosphore et en matières organiques.
Sols mal drainés.

Symptômes : Apparition de pustules jaunes sur les feuilles qui vont ensuite chuter. Les fruits se détachent prématurément.

- **Carence en bore.**

Causes : Forte sécheresse ou humidité importante.
Apports importants d'engrais azotés et potassiques.
Excès d'acide phosphorique, de soufre.

Symptômes : Epaissement des feuilles. Les nervures deviennent jaunes et liégeuses. Les feuilles finissent par se faner. Les fruits se momifient et flétrissent sur l'arbre.

- **Carence en fer.**

Causes : Sols calcaires alcalins.
Excès de cuivre, cobalt, manganèse, engrais azotés, potasse, acide phosphorique.

Symptômes : Amincissement, jaunissement et dépérissement des feuilles par chlorose ferrique.

- **Carence en manganèse.**

Causes : Sols acides, riches en matières organiques.
Excès d'apports de fumier, d'amendements calcaires.

Symptômes : Décoloration des feuilles, atteinte de toute la frondaison.

- **Carence en molybdène.**

Causes : Sols acides, peu drainés.
Apports excessifs de soufre ou de manganèse.

Symptômes : Apparition de taches d'abord vert clair devenant oranges sur les feuilles âgées. Les fruits tombent prématurément de l'arbre.

- **Carence en zinc.**

Causes : Sols alcalins ou trop acides.
Apports trop importants d'amendements calcaires.
Sols riches en phosphore et peu argileux.

Symptômes : Atrophie et jaunissement des feuilles.

Dans tous les cas, la carence devra être traitée par une pulvérisation d'engrais foliaires sur le feuillage en apportant l'élément nutritif déficient (Gontier J. - Praloran J.C. - Weil P.).

3^{ème} chapitre

Les différentes parties botaniques utilisées

Dans les diverses industries qui s'intéressent à l'exploitation de l'oranger amer, les principaux organes végétaux utilisés sont les suivants :

- les fleurs
- les feuilles
- les fruits

Pour ces parties, les dénominations diverses, les définitions ainsi que les exigences officielles (Pharmacopées) et même celles non officielles seront détaillées ci-après.

III.1. Les fleurs.

III.1.1. Dénominations diverses.

Latin :	<i>Aurantii amari flos</i> (Pharmacopée européenne 4 ^{ème} édition), <i>Flores naphae</i> (Wichtl M., et al.)
Français :	Fleurs d'oranger amer, fleurs de bigaradier, fleurs de Néroli (Wichtl M., et al.)
Anglais :	Orange flowers, neroli flowers, seville orange flowers (Wichtl M., et al)
Allemand :	Orangenblüten, Bigaradeblüten, Neroliblüten (Wichtl M., et al.) Pomeranzenblüten (Giraud N.)
Néerlandais :	Bittere orangebloem (Giraud N.)

III.1.2. Définition.

La drogue employée en herboristerie correspond à la fleur entière non ouverte séchée de *Citrus aurantium* L. ssp. *amara*.

Elle se présente sous forme de bouton floral et doit comporter au minimum 8% de flavonoïdes totaux exprimés en naringine (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

III.1.3. Caractères.

III.1.3.1. *Macroscopiques.*

Ils ont été décrits dans la partie II.3.2.2.1.

III.1.3.2. *Microscopiques.*

La fleur d'oranger amer est réduite en poudre ; elle est de couleur jaune-brun.

A l'examen microscopique, en utilisant une solution d'hydrate de chloral R, il a été observé que la poudre contient de nombreux grains de pollen sphériques, présentant une exine finement ponctuée et 3 à 5 pores en fente.

Le mésophylle sous-jacent des sépales contient de gros cristaux prismatiques d'oxalate de calcium et les cellules épidermiques des sépales comportent des poils unicellulaires.

Des fragments épidermiques des pétales sont visibles avec présence d'une cuticule striée.

Des fragments de poches sécrétrices schizolysigènes ainsi que des stomates ont également été observés.

A l'examen microscopique, en employant une solution d'hydroxyde de potassium R, la poudre contient des cristaux jaunes d'héspéridine (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

III.1.4. Identification.

Elle repose sur la reconnaissance des caractères macroscopiques et microscopiques sus-dits (Wichtl M., et al.).

III.1.5. Essais.

III.1.5.1. Eléments étrangers.

Leur taux ne doit pas excéder 2%.

III.1.5.2. Perte à la dessiccation.

Déterminée sur un échantillon de 1g de drogue pulvérisée, la perte à la dessiccation ne doit pas être supérieure à 11%.

III.1.5.3. Cendres totales.

Le taux de cendres totales ne doit pas dépasser 10%.

III.1.5.4. Absorbance.

Elle se mesure au spectrophotomètre sur une solution aqueuse de fleurs d'oranger amer obtenue après distillation et une dilution appropriée. Deux maximas d'absorption sont obtenus respectivement à 185 et 270 nm de longueur d'onde (Giraud N. - Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

III.1.6. Les deux états d'utilisation de la fleur d'oranger amer.

III.1.6.1. Les fleurs séchées.

Elles vont constituer la drogue utilisée en herboristerie et en phytothérapie (Wichtl M., et al.)

III.1.6.2. Les fleurs fraîches.

Elles peuvent être traitées de deux manières distinctes, aboutissant ainsi à l'obtention de produits divers (Weil P.).

- Traitement par hydrodistillation (Weil P.).

Après entraînement par la vapeur d'eau, deux phases de nature différente se forment dans l'essencier par séparation due à leur différence de densité :

- phase supérieure : huile essentielle de néroli bigarade.
- phase inférieure : eau distillée de fleur d'oranger.

Remarque : cette eau distillée de fleurs d'oranger peut subir un traitement à l'hexane, puis un lavage à l'alcool. Il est alors obtenu un produit improprement dénommé : « absolue des eaux de fleur d'oranger ».

- Traitement par extraction à l'aide d'un solvant (Weil P.).

Le solvant le plus souvent employé est l'hexane.

Le produit obtenu par cette méthode d'extraction est appelé : « concrète de fleur d'oranger ». Cette concrète peut être traitée à l'alcool afin d'obtenir une « absolue de fleur d'oranger » (produit noble).

III.1.7. Falsifications.

Elles sont rares (Wichtl M., et al.).

III.2. Les feuilles.

III.2.1. Dénominations diverses.

Latin :	<i>Aurantii folia</i>
Français :	Feuilles d'oranger amer, feuilles de bigaradier
Anglais :	Bitter orange leaves
Allemand :	Bitterorangenblätter, Pomeranzenblätter
Néerlandais :	Bitter oranjeblad

(Giraud N.)

III.2.2. Définition.

La drogue est constituée par les feuilles, séchées à l'ombre après leur récolte (Poletti A.).

Pour être récoltées, elles sont choisies vertes, fermes et odorantes. En séchant, elles s'enroulent souvent sur elles-mêmes et prennent une couleur vert gris. Ces feuilles proviennent souvent de la taille des arbres (Michel P.).

La feuille n'a pas fait l'objet d'une monographie ni à la Pharmacopée européenne ni à la Pharmacopée française.

III.2.3. Caractères.

Les caractères macroscopiques ont été décrits dans la partie II.3.2.1.2. Les caractères microscopiques sont représentés par la présence de cellules avec et sans chloroplastes, des poches sécrétrices schizolysigènes, des tissus conducteurs (faisceaux criblo-vasculaires) et des stomates (au niveau de l'épiderme inférieur).

III.2.4. Identification.

Elle repose sur la reconnaissance des caractères macroscopiques et microscopiques.

III.2.5. Essais.

III.2.5.1. Teneur en eau.

Elle est déterminée par la méthode d'entraînement azéotropique au xylène sur un échantillon de 25g de feuilles. La teneur en eau ne doit pas excéder 10%.

III.2.5.2. Cendres sulfuriques.

Leur taux, déterminé sur un échantillon de 1g de feuilles, ne doit pas être supérieur à 25%.

III.2.5.3. Chromatographie.

Une chromatographie sur papier peut être effectuée à partir d'un extrait de feuilles d'oranger amer.

Le solvant de migration est le butanol acétique.

Après migration du dépôt, la révélation a lieu sous rayonnements ultra-violet en présence de vapeurs ammoniacales ou après pulvérisation d'un réactif au trichlorure d'ammonium.

Le chromatogramme obtenu comporte une tache principale. Sous lumière ultra-violette, cette tache apparaît jaune-vert en présence de vapeurs ammoniacales et jaune-fluorescent après pulvérisation d'un réactif au trichlorure d'ammonium (Giraud N.).

III.2.6. Les deux états d'utilisation des feuilles d'oranger amer.

III.2.6.1. Les feuilles séchées.

Elles constituent la drogue utilisée en herboristerie et en phytothérapie (Poletti A.).

III.2.6.2. Les feuilles fraîches.

Comme les feuilles fraîches proviennent la plupart du temps de la taille des arbres, des brindilles coupées leur seront souvent associées.

Le produit de la taille des arbres est alors appelé « brout ». Ce « brout » peut être traité de deux manières (Weil P.) :

- Traitement par distillation (Giraud N.).

On obtient après entraînement à la vapeur pulsée un mélange d'huile essentielle de petitgrain bigarade et d'hydrolat de feuilles d'oranger (=eau de brouts).

Remarque : après séparation du mélange, l'eau de brout peut être traitée par un solvant volatil (hexane) suivi d'un lavage à l'alcool dans le but d'obtenir une « absolue d'eau de brouts » (terme impropre) (Weil P.).

- Traitement par extraction par un solvant volatil (Giraud N.).

Après extraction par l'hexane et traitement par l'alcool, on obtient « l'absolue de brouts ».

III.2.7. Dosage.

Il consiste à déterminer la teneur en huile essentielle de la feuille d'oranger amer à partir d'un échantillon de 20 g de feuilles. Cette teneur doit être supérieure à 0,30 % V/M (Giraud N.).

III.2.8. Falsifications.

La feuille de bigaradier est fréquemment substituée par celle de l'oranger doux, du citronnier ou du cédratier.

Pendant, il est aisé de reconnaître la feuille de l'oranger amer en procédant à l'examen de son pétiole : celui-ci est largement ailé tandis que celui de l'oranger doux possède une aile étroite et celui du citronnier une aile pratiquement nulle. Quant à la feuille de cédratier (que l'on ne rencontre pas dans le commerce) son pétiole n'est pas ailé (Giraud N.).

III.3. Les fruits mûrs.

III.3.1. Définition de la drogue.

La drogue est constituée par l'épicarpe et le mésocarpe du fruit mûr ou presque mûr, en partie débarrassé du tissu blanc spongieux, mucilagineux provenant du mésocarpe et de l'endocarpe (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition). L'épicarpe et le mésocarpe d'orange amère sont plus communément appelés « zeste » ou « écorce » d'orange amère ; cependant, ce dernier terme usité est impropre (Pharmacopée française 9^{ème} édition).

La 10^{ème} édition de la Pharmacopée française considère, quant à elle, que la drogue issue du fruit de l'oranger amer est constituée par le péricarpe du fruit.

De quelle manière est récoltée l'écorce d'orange amère ? (Giraud N.)

Lorsque les fruits atteignent une taille suffisante et qu'ils n'ont pas encore pris leur couleur orange, ils sont zestés à la main par un personnel spécialisé, de manière à former des rubans verts d'écorce d'orange amère. Ils sont alors séchés, suspendus à l'abri du soleil et en plein courant d'air froid, afin de conserver leur couleur verte.

III.3.2. Dénominations diverses.

Latin :	<i>Aurantii amari epicarpium et mesocarpium</i> (Pharmacopée européenne 4 ^{ème} édition), <i>Aurantii amari pericarpium</i> (Pharmacopée française 10 ^{ème} édition), <i>Cortex aurantii fructi</i> (Giraud N.), <i>Cortex pomorum aurantii</i> , <i>Aurantii amari flavedo</i> (Wichtl M., et al.)
Français :	Epicarpe et mésocarpe d'orange amère (Pharmacopée européenne 4 ^{ème} édition), écorce d'orange amère (Pharmacopée française 10 ^{ème} édition)
Anglais :	Dried bitter orange peel (Wichtl M., et al.)
Allemand :	Pomeranzenschale, bitterorangenschale, bigaradeschale (Wichtl M., et al.)
Néerlandais :	Bittere orangexhilschors (Giraud N.)

III.3.3. Caractères.

III.3.3.1. Macroscopiques.

L'épicarpe et le mésocarpe d'orange amère se présentent sous la forme de rubans spiralés ou irréguliers de 5 à 8 cm de long pour une largeur allant de 3 à 5 cm et une épaisseur de 3 mm.

Ils peuvent également se présenter soit sous la forme de fragments de rubans plus ou moins incurvés soit sous forme de quartiers fusiformes à bord épais et nettement coupés sur la tranche.

Cette écorce d'orange amère est constituée d'une face externe (flavedo) jaunâtre à brun-rouge criblée de ponctuations bien distinctes tandis que la face interne (albedo) est jaunâtre à blanc-brun.

Dans les rubans et les fragments de ruban, la flavedo est plane ou légèrement incurvée et l'albedo est mince sur les bords.

L'écorce d'orange amère est dure et cassante ; elle possède une saveur amère et épicée et une odeur caractéristique (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition - Pharmacopée française 10^{ème} édition).

III.3.3.2. Microscopiques.

Ils sont observés après avoir pulvérisé la drogue.

La poudre obtenue est bien claire. Elle est examinée au microscope en présence d'une solution d'hydrate de chloral R. Il est possible de distinguer des cellules de l'épicarpe

polygonales à parois épaissies contenant de nombreux globules rouge-orangé ainsi que la présence de quelques stomates. L'hypoderme fragmenté présente des épaississements collenchymateux.

Au niveau du mésocarpe, des groupes de cellules parenchymateuses contiennent chacune un cristal prismatique d'oxalate de calcium. Ces cellules renferment également des débris de poches sécrétrices schizolysigènes. D'autres cellules parenchymateuses comportent des cristaux d'hespéridine qui donnent une couleur jaune après leur dissolution dans une solution d'hydroxyde de potassium R à 20 g/l.

La Pharmacopée française 10^{ème} édition mentionne que l'examen microscopique s'effectue sur une section transversale de l'écorce montée dans le réactif lactique R. Elle précise que les poches schizolysigènes peuvent atteindre 1 mm de diamètre et les cristaux d'oxalate de calcium 45 µm de diamètre. Elle note, en outre, la présence, de place en place, de quelques minces vaisseaux spiralés de xylème (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

III.3.4. Identification.

Elle consiste en la reconnaissance des caractères macroscopiques et microscopiques décrits ci-dessus.

En outre la Pharmacopée française 10^{ème} édition précise une autre méthode d'identification chimique : à partir d'un extrait alcoolique de la matière à analyser auquel on ajoute de la tournure de magnésium R (2 à 3 fragments) et 3 gouttes d'acide chlorhydrique R (réaction de la cyanidine), il apparaît une coloration rose-violacé à la fin du dégagement gazeux, signant ainsi la présence de flavonoïdes.

Une autres méthode d'identification repose sur la chromatographie sur couche mince (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

La solution à examiner est un extrait méthanolique (1 g de drogue pulvérisée dans 10 ml de méthanol). La solution témoin contient 1 mg de naringine R et 1 mg d'acide caféique R dans 1 ml de méthanol R.

Deux bandes de 20 µl chacune sont déposées sur une plaque recouverte de gel de silice correspondant pour l'une à la solution témoin et pour l'autre à la solution à examiner.

Le développement s'effectue alors sur un parcours de 10 cm dans une phase mobile constituée d'un mélange d'eau R, d'acide formique anhydre R et d'acétate d'éthyle R (10 :15 :75 V/V/V). le séchage de la plaque s'effectue alors dans un premier temps à l'air libre puis dans un deuxième temps dans une étuve chauffée à 110-120°C pendant 5 minutes.

La révélation a lieu par la pulvérisation d'une solution méthanolique de diphénylborate d'aminoéthanol R à 10 g/l puis d'une solution méthanolique de macrogol 400 R.

L'examen du chromatogramme s'effectue après une heure minimum de révélation en lumière ultra-violette à 365 nm.

La solution témoin présente une première bande de fluorescence vert foncé (naringine) et une deuxième bande de fluorescence bleu clair (acide caféique). Pour la solution à examiner, on retrouve les deux bandes précédentes et d'autres bandes de

fluorescence, notamment une bande de fluorescence rouge correspondant à la néoériocitrine.

III.3.5. Essais.

III.3.5.1. *Éléments étrangers.*

La teneur en éléments étrangers est déterminée sur 50 g de matière première. Elle ne doit pas être supérieure à 2% (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

III.3.5.2. *Teneur en eau.*

Elle est mesurée par entraînement sur 20 g de drogue pulvérisée. Elle ne doit pas excéder 10% (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

A la Pharmacopée française 10^{ème} édition, la teneur en eau est déterminée par entraînement azéotropique au toluène sur 25 g d'écorce d'orange amère grossièrement concassée.

La teneur en eau ne doit pas être supérieure à 12%.

III.3.5.3. *Cendres totales.*

Leur taux ne doit pas dépasser 7% (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

La Pharmacopée française 10^{ème} Edition accepte un taux de cendres totales qui n'excède pas 8%. Cette mesure s'effectue sur 1g d'écorce d'orange amère grossièrement pulvérisée.

III.3.5.4. *Matières extractibles.*

Leur teneur doit être au minimum de 6% (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

III.3.5.5. *Chromatographie.*

Il s'agit d'une chromatographie sur couche mince qui est réalisée à partir d'un extrait méthanolique obtenu après trituration et filtration de 2 g d'écorce d'orange amère avec 10 ml de méthanol, comparativement à trois solutions témoins méthanoliques :

- solution témoin a : 5 mg de rutine R dans 10 ml de méthanol R
- solution témoin b : 5 mg d'héspéridine dans 2 ml de méthanol R
- solution témoin c : 5 mg d'acide caféique dans 10 ml de méthanol R

Après avoir déposé sur une plaque de gel de silice 5µl de chaque solution, le développement s'effectue sur un parcours de 12 à 15 cm dans une phase mobile

contenant un mélange de méthyléthylcétone R-eau-acide formique anhydre R-acétate d'éthyle R (30 :10 :10 :50 V/V/V/V).

La révélation a lieu après séchage à l'air, par pulvérisation d'une solution méthanolique de diphénylborate d'aminoéthanol R à 1% M/V et d'une solution méthanolique de polyéthylèneglycol 400 R à 5% M/V.

L'examen du chromatogramme s'effectue en lumière ultra-violette à 365 nm. Le chromatogramme de la solution à analyser comporte deux taches de fluorescence orange et brune correspondant respectivement aux taches obtenues avec la solution de rutine et celle d'hespéridine. Entre ces deux taches, le chromatogramme présente une tache de fluorescence intense rouge (ériocitrine) et une tache de fluorescence brun-vert située au-dessus de celle correspondant à l'hespéridine. En outre, ce même chromatogramme dévoile la présence de 5 à 6 taches de fluorescence bleue à bleu-violacé situées entre la tache bleu clair du chromatogramme de la solution d'acide caféique et la tache de fluorescence brune du chromatogramme de la solution d'hespéridine (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

III.3.6. Dosage.

La détermination des huiles essentielles est effectuée sur une prise d'essai de 15 g de drogue en poudre. Le dosage se fait par distillation par entraînement à la vapeur d'eau. La teneur en huile essentielle doit être au minimum de 20 ml/kg de drogue anhydre soit 2% V/M (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

A la Pharmacopée française 10^{ème} édition, la prise d'essai correspond à 10 g de substance grossièrement contusée.

III.3.7. Produits obtenus à partir du fruit mûr.

Le traitement du fruit mûr permet d'obtenir l'huile essentielle d'orange amère de deux manières différentes :

- par expression de l'écorce séparée au préalable du fruit.
- par traitement du fruit entier. En cours d'opération, le zeste est séparé du fruit ou bien ce dernier est pressé en surface (Weil P.).

Remarque : dans certains pays, le fruit entier est traité par broyage puis l'huile essentielle d'orange amère est isolée par centrifugation (Weil P.).

A partir de l'orange amère, il est possible d'en extraire le jus. Elle sert également de matière première à la fabrication de la marmelade d'orange amère (Boelens M.H., et al.).

III.3.8. Conservation.

La drogue doit se conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des conditionnements parfaitement hermétiques (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

III.3.9. Falsifications.

Elle est peu fréquente mais elle existe. Dans ce cas, l'écorce de bigaradier est falsifiée par l'écorce d'orange douce dont l'indice d'amertume est plus faible et qui verdit rapidement au contact de l'acide nitrique au lieu de brunir comme l'écorce d'orange amère (Wichtl M., et al.).

III.4. Les fruits immatures.

III.4.1. Dénominations diverses.

Latin :	<i>Aurantii fructus immaturi, Baccae aurantii immaturae</i> (Wichtl M., et al.)
Français :	Orange verte, orange immature (Wichtl M., et al.), orangette, petitgrain (Dorvault F.)
Anglais :	Immature orange (Giraud N.), unripe orange (Wichtl M., et al.)
Allemand :	Unreife pomeranzen, grüne orangen, orangetten (Wichtl M., et al.)
Néerlandais :	Onrijpe bittere orangeappel (Giraud N.)

III.4.2. Définition.

Ces fruits immatures désignent les jeunes fruits du bigaradier qui tombent d'eux-mêmes ou bien qui sont cueillis et desséchés après la fécondation de la fleur au moment où ils commencent seulement à se développer (Dorvault F.).

III.4.3. Description.

Les orangettes sont de petits fruits : 0,5 à 2 cm de diamètre, presque sphériques, très durs, vert foncé à gris-brun sur leur face externe dont l'aspect est verruqueux ou ridé.

Elles présentent également de nombreuses dépressions ponctuées correspondant à des poches sécrétrices d'huile essentielle.

L'examen du fruit en coupe transversale permet de voir que les poches sécrétrices se situent sous la flavedo (Wichtl M., et al.).

Au centre du fruit, on observe la présence de 7 à 12 loges formées de poils endocarpiens, peu développées, pauvres en sucs (Giraud N.).

Ces fruits immatures ont une odeur épicée et aromatique ainsi qu'une saveur amère et aromatique (Wichtl M., et al.).

Ces orangettes servaient à la fabrication des pois à cautères (Dorvault F.).

L'écorce pulvérisée est parfois utilisée pour falsifier le poivre moulu (Giraud N.).

III.4.4. Caractères.

III.4.4.1. Macroscopiques.

Ils ont été mentionnés dans le paragraphe ci-dessus.

III.4.4.2. Microscopiques.

L'épiderme est constituée de petites cellules et de grands stomates. Le parenchyme de la paroi des orangettes comporte des cristaux d'oxalate de calcium ainsi que des amas amorphes d'héspéridoside (Wichtl M., et al.).

III.4.5. Identification.

L'identification repose sur la reconnaissance des caractères macroscopiques et microscopiques des orangettes.

L'identification peut également se baser sur la mise en évidence de l'héspéridoside. En effet, ce composé chimique est insoluble dans l'eau mais soluble dans une solution d'hydroxyde de potassium formant une coloration jaune intense. Il donne avec l'acide sulfurique concentré une coloration jaune-orangé devenant rouge par chauffage.

L'indice d'amertume doit être au minimum de 1000 (Wichtl M., et al.).

III.4.6. Produit issu du traitement des orangettes.

Autrefois, c'était à partir de ces petits fruits qu'était obtenue l'huile essentielle de petitgrain (d'où son nom) (Dorvault F.). Actuellement, cette huile essentielle s'obtient à partir des feuilles et des tiges issues de la taille des arbres (Weil P.).

III.4.7. Falsifications.

Elles sont rares mais lorsqu'elles ont lieu, ce sont les citrons verts qui se substituent aux orangettes. Cependant, ils sont facilement repérables par leur forme allongée et la présence à leur sommet d'un appendice mammiforme. De plus, leur amertume est très faible (Wichtl M., et al.).

III.5. Conclusion.

La page suivante montre un schéma récapitulatif des différents produits issus du traitement des principaux organes botaniques de l'oranger amer (Boelens M.H., et al.).

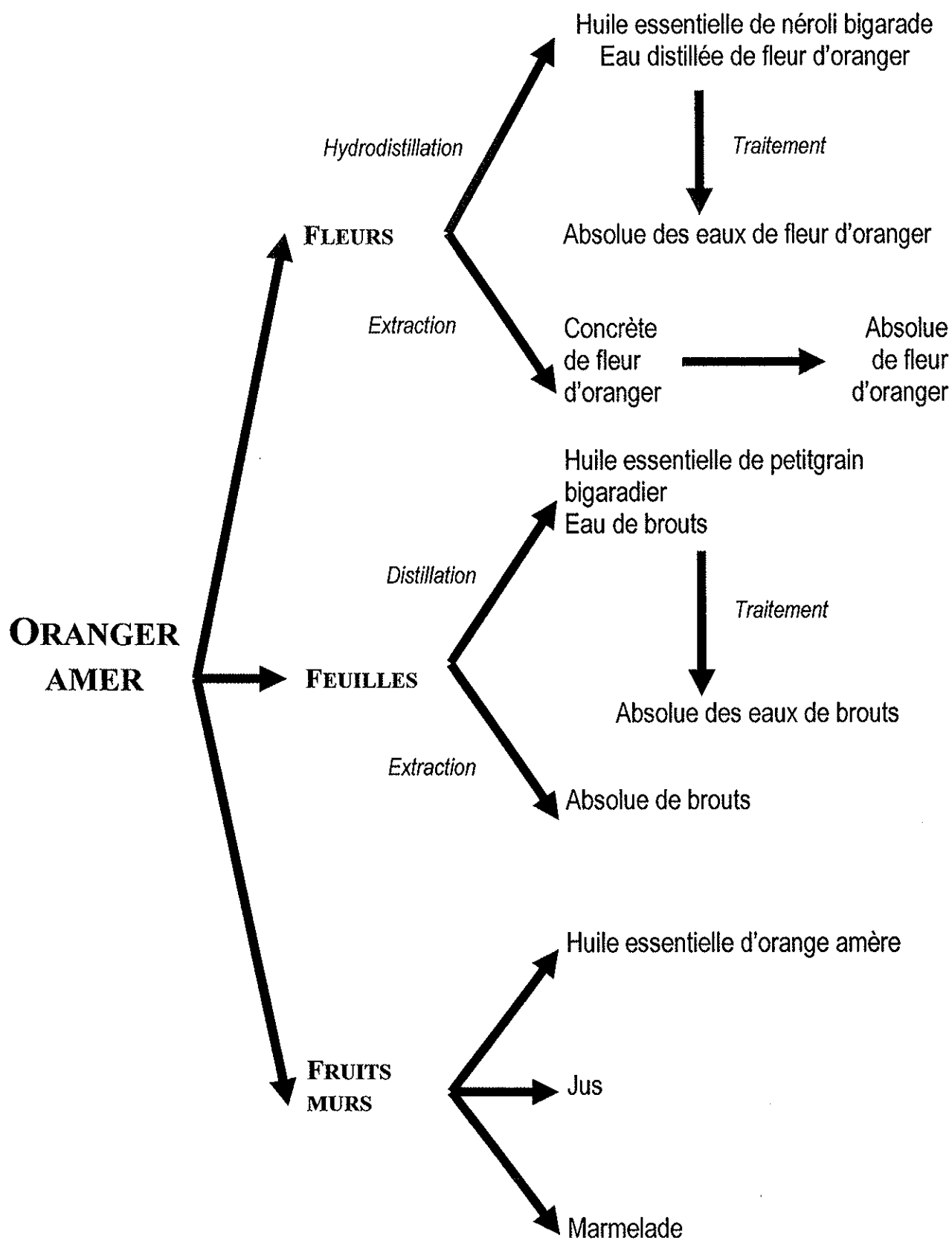


Figure 4 : les différents produits extraits de l'oranger amer.

4^{ème} chapitre

**Caractéristiques et
composition
chimique des trois
parties de l'oranger
amer et de leurs
produits dérivés**

L'oranger amer a, parmi de nombreux avantages, celui de produire, après traitement de chacune de ses parties végétales, trois huiles essentielles (HE) de composition différente et utilisées dans de nombreux domaines industriels tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie entre autres. C'est ainsi qu'avant d'aborder la composition chimique spécifique de chaque partie botanique du bigaradier, nous étudierons les huiles essentielles d'une manière générale.

IV.1. Les huiles essentielles.

IV.1.1. Généralités sur les huiles essentielles (HE).

IV.1.1.1. Définition.

Pour la 8^{ème} édition de la Pharmacopée française (1965), les HE sont « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation à la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes et celui par expression. »

La Pharmacopée précise ensuite que le second procédé est recommandé pour obtenir les HE des fruits du genre *Citrus*.

Depuis la 9^{ème} édition (1972), la Pharmacopée n'utilise plus que le terme HE.

Une deuxième définition est donnée par l'Agence Française de Normalisation (AFNOR) en Février 1998. La norme AFNOR NFT 75-006 définit une HE de la manière suivante : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple, redistillation, aération...) »

Remarque : parmi les procédés physiques, certains sont exclus de la définition de la norme AFNOR NFT 75-006, notamment l'extraction à base de solvants, la technique d'enfleurage, le gaz sous pression.

IV.1.1.2. Répartition - Localisation.

- Répartition.

Ces HE n'existent pratiquement que chez les végétaux supérieurs. Leur élaboration concerne des genres botaniques répartis dans un nombre limité de familles du règne végétal. Elles peuvent se retrouver dans tous les organes botaniques notamment dans les fleurs et les feuilles, mais aussi, bien que plus rarement, dans le bois, les écorces, le rhizome, les racines, les fruits, les graines.

Cependant, si toutes les parties végétales d'une même espèce peuvent stocker une HE, celle-ci peut avoir une composition chimique différente en fonction de sa localisation.

Ainsi, l'oranger amer fournit trois HE de composition chimique différente selon qu'elles sont extraites de la fleur, de la feuille ou du fruit.

- Localisation.

La fabrication et le stockage des HE ont lieu le plus souvent dans des structures spécialisées présentes à la surface de la plante ou à proximité de cette surface :

- canaux sécréteurs (Astéracées)
- cellules sécrétrices schizolysigènes (Rutacées)
- poils sécréteurs (Lamiacées)
- cellules à HE (Lauracées).

IV.1.1.3. Propriétés physiques.

Ce sont des composés volatils, liquides à température ambiante, généralement incolores. Ces HE ont une densité inférieure à 1 (sauf quelques exceptions comme les HE de cannelle ou de girofle). Elles possèdent un indice de réfraction élevé et dévient, pour la plupart, la lumière polarisée. Elles sont très peu solubles dans l'eau et donc entraînaibles à la vapeur d'eau. Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels et liposolubles.

IV.1.1.4. Composition chimique.

D'une manière générale, les HE sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant presque exclusivement à deux groupes chimiques : les terpénoïdes d'une part et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part (moins nombreux). A cela, il est possible d'ajouter certains produits issus de la dégradation de molécules non volatiles.

Ces derniers composés sont souvent à l'origine de l'arôme des fruits.

IV.1.1.5. Facteurs de variabilité des HE.

Parmi eux, nous pouvons citer la possible existence de plusieurs chimiotypes pour une même espèce végétale qui va être à l'origine d'une composition chimique variable de l'HE pour cette même espèce botanique.

En ce qui concerne les autres facteurs de variabilité, nous pouvons retrouver :

- L'influence du cycle végétatif : la teneur, ainsi que la composition chimique qualitative et quantitative d'une HE peuvent varier en fonction du degré de maturité du végétal.
- L'influence de facteurs extrinsèques : il peut s'agir par exemple de facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité relative, la durée d'exposition au soleil, la présence de vents. Ces facteurs vont exercer directement leurs effets sur l'espèce végétale donnée. De même, les méthodes de culture peuvent influencer le rendement ainsi que la qualité de l'HE.
- L'influence du procédé d'obtention : au cours du processus d'obtention d'une HE, ses constituants chimiques peuvent subir diverses réactions

chimiques telles que des hydrolyses, des oxydations, des isomérisations, des racémisations qui vont conduire à la formation de nouvelles molécules au détriment des espèces chimiques mises en jeu lors de ces réactions chimiques.

- L'état de la matière : la durée du stockage de l'espèce végétale peut avoir une incidence sur la composition qualitative et quantitative de l'HE.

IV.1.1.6. Différents procédés d'obtention des HE.

IV.1.1.6.1. Entraînement par la vapeur d'eau.

Trois techniques sont utilisées :

- L'hydrodistillation :

Il s'agit d'une distillation à la vapeur simple. La matière première est en contact direct avec de l'eau que l'on porte à ébullition dans un alambic. Les vapeurs obtenues formeront une condensation sur une surface froide et l'HE se séparera par différence de densité. Cette méthode peut être effectuée avec l'espèce végétale intacte ou broyée, *in situ* dans un turbo-extracteur. Dans ce cas, il s'agira d'une turbodistillation.

- La distillation à la vapeur saturée :

La vapeur d'eau est envoyée au travers du végétal qui est disposé au dessus de l'eau de l'alambic sur des plaques perforées. Ainsi, la plante n'est pas en contact direct avec l'eau bouillante. Il est possible de travailler en surpression (1 à 3 bars) afin de limiter le temps de traitement et l'altération des constituants de l'HE ainsi que pour économiser de l'énergie. L'inconvénient de ce travail en surpression est le risque d'obtenir un produit final de moindre qualité, dû à l'augmentation de la température de travail. La distillation à la vapeur saturée peut avoir lieu en continu à condition de bénéficier d'un matériel automatisé.

- L'hydrodiffusion :

De la vapeur d'eau à faible pression (0,02 à 0,15 bar) est envoyée sur la matière végétale du haut vers le bas. Ce mode d'obtention des HE permet de gagner du temps et de minimiser les dépenses énergétiques. Cependant, la composition qualitative des produits finaux sera légèrement différente de celle des produits issus des deux autres procédés.

IV.1.1.6.2. Expression des épicarpes de « Citrus ».

Cette méthode consiste à gratter ou à presser « l'écorce » des agrumes afin de recueillir l'HE après rupture des poches sécrétrices schizolysigènes (Maxwell-Hudson C.).

IV.1.1.6.3. Autres procédés.

Depuis quelques années de nouveaux procédés d'obtention ont vu le jour ; c'est le cas notamment de l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide dont le principe est de faire chauffer la plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est séquentiellement réduite. Il y a formation d'un mélange azéotropique constitué par l'HE et la vapeur d'eau libérée par la plante. Ce procédé est très rapide et limite les dépenses énergétiques. Cependant, nous ne savons pas si cette méthode d'obtention altère la qualité de l'HE.

IV.1.1.7. Contrôle des HE.

- L'examen olfactif :

Il est effectué avant toute autre analyse afin d'établir si l'HE peut être utilisée. Si cet examen est conforme, l'huile pourra être analysée de manière plus approfondie ; dans le cas contraire, elle sera refusée (Giraud N.).

- Les essais les plus fréquemment pratiqués sur les HE sont dans un premier temps des mesures physiques telles que :
 - indice de réfraction
 - angle de rotation
 - densité relative
 - miscibilité à l'éthanol
 - parfois point de solidification
- Certains instituts de normalisation tels que l'AFNOR peuvent également préconiser des essais chimiques comme :
 - la détermination des indices d'acide, d'ester, de carbonyle¹
 - la détermination du résidu d'évaporation
- Concernant le contrôle des HE, les Pharmacopées préconisent également une analyse des HE par une technique chromatographique. La plus simple, la CCM (chromatographie sur couche mince) utilisée en routine pour le contrôle de qualité des HE, reste cependant une technique insuffisante.
- Parmi les procédés chromatographiques existants, le plus employé est la chromatographie en phase gazeuse (CPG) du fait de la volatilité des constituants de l'HE. Cette méthode permet aussi bien une analyse qualitative qu'une analyse quantitative de l'huile. De plus, elle présente plusieurs avantages dont la facilité

¹ Indice d'acide : il s'agit du nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme d'HE. La neutralisation s'effectue avec une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium.

Indice d'ester : il correspond au nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium utilisés afin de neutraliser les acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme d'HE. Cette hydrolyse s'effectue par chauffage en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium. L'excès alcalin est dosé par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

Indice de carbonyle : il s'agit du nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium par gramme d'HE nécessaires pour neutraliser l'acide chlorhydrique libéré lors de la réaction d'oximation avec le chlorure d'hydroxyde d'ammonium (Giraud N.).

de mise en œuvre, la possibilité d'automatisation de la technique, la fiabilité des résultats et un temps d'analyse relativement court.

Auparavant cette CPG avait lieu sur des colonnes garnies. Désormais, l'analyse des HE est réalisée uniquement sur des colonnes capillaires donnant ainsi des temps de rétention avec une plus grande précision.

Lors des analyses des HE, il est nécessaire de se référer à des profils chromatographiques types obtenus en CPG qui sont normatifs alors que certains chromatogrammes types proposés ne sont qu'informatifs.

Définition d'un profil chromatographique :

Il s'agit d'un ensemble de constituants chimiques d'une HE choisis parmi ceux qui sont représentatifs et ceux qui en sont caractéristiques. Cette liste de constituants est accompagnée des limites de concentration de chacun d'eux et parfois des rapports entre ces concentrations.

Un constituant est représentatif d'une HE quand il est présent dans tous les échantillons à une concentration dont la distribution statistique est proche de la courbe de Gauss.

Un constituant caractéristique est un constituant représentatif dont la concentration (qui peut être nulle) constitue une caractéristique.

Technique de l'espace de tête :

Encore appelée technique de «HEADSPACE», celle-ci fournit très peu de matière première et n'est analysable que par les moyens de la CPG. Originellement utilisée pour l'étude des arômes, cette méthode analytique consiste en l'analyse de la phase gazeuse en équilibre avec l'échantillon placé en atmosphère confinée (Richard H., et al.).

La technique a pour principe de piéger les substances volatiles soit à très basse température, soit par adsorption sur un polymère hydrophobe. Ces substances sont ensuite libérées par chauffage ou désorption et étudiées en CPG (Bruneton J.).

Les avantages de cette technique sont les suivants :

- opération relativement rapide, réalisable à température ambiante, ce qui évite la dégradation thermique des composants.
- réaction propre, ce qui limite la concentration par des impuretés (Richard H., et al.).

Ces techniques chromatographiques en phase gazeuse sont fréquemment couplées à des méthodes spectrométriques permettant ainsi d'identifier les constituants d'une HE (spectromètre de masse...)

La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut être utilisée pour effectuer l'analyse spectrale d'un composé inconnu. Dans le cas d'une étude plus sensible des HE, il est parfois nécessaire de procéder à un préfractionnement :

- soit chimique (exemple : séparation de composés insaturés sous forme de composés d'addition).
- soit chromatographique (sur colonne).

Il est possible de faire appel à d'autres méthodes chromatographiques afin d'analyser les HE.

Nous pouvons citer entre autre la chromatographie liquide haute pression (HPLC). Cette technique est surtout employée dans le but de vérifier l'authenticité des HE de *Citrus* en opérant par l'analyse des composés non volatils. Elle est également utilisée pour doser l'herniarine (une coumarine) dans les HE de lavande et d'estragon. Cette technique peut, comme pour les chromatographies précédentes, être couplée à la spectrométrie de masse.

Pour en terminer avec les méthodes d'analyse, nous mentionnerons la technique des nez électroniques qui tend à se développer. Elle permet en un temps relativement court (quelques minutes) d'analyser objectivement des parfums complexes. Son principe tient en l'étude d'une atmosphère par un réseau de capteurs et dont l'information obtenue est traitée par un système informatique de type réseau de neurones. L'empreinte numérique d'une odeur est alors constituée, intégrée et mise en mémoire. L'appareil l'utilisera alors comme référence pour les analyses à venir.

Les inconvénients de cette méthode d'analyse sont :

- un vieillissement prématuré des capteurs,
- la difficulté de standardisation des capteurs.

IV.1.1.8. Propriétés pharmacologiques des HE.

De par la nature de l'HE qui est un « mélange complexe » il est aventureux d'essayer de lui établir une pharmacologie, une pharmacocinétique ainsi qu'un métabolisme.

Cependant, les études menées sur les HE ont permis de mettre en évidence quelques propriétés fondamentales que nous rappellerons, ici, succinctement.

- Pouvoir antiseptique :

De par leur pouvoir antiseptique les HE ont toutes une activité antibactérienne qui s'exerce sur une majorité de bactéries de différentes natures, y compris sur celles qui sont normalement résistantes aux antibiotiques.

Certaines HE peuvent posséder également une activité antifongique à l'encontre des mycoses et des levures.

Ces HE exercent leur pouvoir antiseptique généralement à faible dose.

Parmi celles qui sont le plus antiseptique, nous retrouvons la sarriette, la cannelle, le thym, le girofle...

A savoir aussi à titre d'exemple que des composés comme le linalol, le citral, le géraniol ou le thymol ont respectivement un pouvoir antiseptique 5-5,2-7,1 et 20 fois supérieur au phénol.

- Propriétés spasmolytiques et sédatives :

Ces propriétés sont attribuées à un grand nombre d'HE capables d'agir au niveau de la sphère digestive en calmant les spasmes gastro-intestinaux, en stimulant la sécrétion gastrique. Cet effet eupeptique peut ainsi entraîner une amélioration des troubles du sommeil et de certains troubles psychosomatiques.

Remarque : des études *in vitro* ont montré que de nombreuses HE exerçaient une activité spasmodique marquée sur un iléon de cobaye isolé. A l'opposé, quelques rares HE (anis, fenouil) ont entraîné une augmentation des contractions phasiques du même organe.

- Propriétés irritantes :

Par voie externe l'application d'HE peut entraîner une augmentation de la microcirculation (HE de térébenthine) s'accompagnant d'une rougeur de la peau et d'une sensation de chaleur. Parfois, elles sont à l'origine d'une légère anesthésie locale exerçant ainsi une action antalgique.

Par voie interne les HE sont susceptibles de déclencher des phénomènes « d'irritation » sur différents organes comme l'arbre bronchique en stimulant les cellules à mucus ou bien le rein en favorisant l'élimination rénale d'eau.

IV.1.1.9. Toxicité des HE.

IV.1.1.9.1. Toxicité aiguë.

Chez l'animal, la toxicité aiguë des HE par voie orale est généralement faible et à titre d'exemple, nous pouvons citer quelques DL_{50} :

- La majorité des HE couramment utilisées ont une DL_{50} comprise entre 2 et 5g/kg (anis, eucalyptus) ou supérieure à 5g/kg (camomille, lavande...).
- Une quinzaine d'HE ont une DL_{50} comprise entre 1 et 2g/kg (basilic, estragon, origan).
- Parmi les HE les plus toxiques, on retrouve celles de boldo ($DL_{50}=0,13$ g/kg), de chénopode ($DL_{50}=0,25$ g/kg), de thuya ($DL_{50}=0,83$ g/kg), de pennyroyal ($DL_{50}=0,4$ g/kg) et de moutarde ($DL_{50}=0,34$ g/kg).

Cependant, ces résultats obtenus chez l'animal ne sont que des indications relatives puisque des intoxications aiguës chez l'homme ont été observées cliniquement malgré une DL_{50} élevée.

Malgré tout, ces accidents graves restent faibles. Il a été établi que les intoxications graves, surtout chez le jeune enfant, étaient dues à une ingestion importante d'HE, mais pour un petit nombre d'entre elles.

Certaines HE dont la toxicité aiguë a été reconnue ont fait l'objet d'une législation particulière concernant leur préparation, leur dilution, leur vente au détail et leur délivrance au public. C'est le cas des HE :

- d'absinthe
- de petite absinthe
- d'armoïse
- de cèdre
- d'hysope
- de sauge
- de tanaïsie
- de thuya

IV.1.1.9.2. Toxicité chronique.

Etant donné que cette toxicité est mal connue, surtout en ce qui concerne la pratique de l'aromathérapie et quelle que soit la voie d'administration utilisée, il serait mal venu de faire des spéculations.

IV.1.1.9.3. Toxicité dermique.

Au vue de l'existence éventuelle d'une toxicité aiguë ou chronique par voie locale, d'un pouvoir irritant, sensibilisant ou phototoxique des HE, des organismes habilités ont établi des recommandations liées à leur utilisation.

IV.1.1.9.4. Cancérogénicité.

Des études expérimentales chez certains rongeurs ont mis en évidence le caractère cancérogène de certaines molécules chimiques présentes dans quelques HE telles que les allyl- et prophénylphénols.

A titre d'exemple, nous pouvons mentionner :

- chez le rat, la formation de tumeurs hépatiques due au safrole du sassafras, l'apparition de tumeurs de l'intestin grêle par la β -asarone de l'açore.
- chez la souris, l'apparition de tumeurs hépatiques due à l'estragole retrouvé chez le basilic et l'estragon.

Cependant, il est difficile d'extrapoler ces résultats au genre humain puisqu'il existe une disproportion entre les doses administrées aux animaux lors des expérimentations et celles que l'homme est susceptible de consommer de manière journalière. Il a été calculé que le rongeur est treize millions de fois plus exposé que l'homme au métabolite toxique formé lors des réactions d'hydroxylation. Des études chez le rat pendant deux ans concernant l'anéthole, un alcénylbenzène très souvent rencontré dans les boissons anisées, ont pu confirmer l'innocuité de cette molécule chez l'homme y compris à des doses que peuvent ingérer des consommateurs réguliers de boissons anisées.

IV.1.1.10. Emploi des HE.

Nous ne citerons que les principaux domaines où elles sont utilisées. La question de l'emploi des HE de l'oranger amer sera traitée ultérieurement.

L'emploi des HE se retrouve ainsi dans trois principaux secteurs d'activités :

- la pharmacie avec le développement de l'aromathérapie,
- la parfumerie et l'industrie des cosmétiques,
- l'industrie agro-alimentaire.

IV.1.1.11. Conservation des HE.

Du fait de la relative instabilité des constituants chimiques des HE, il est nécessaire de stocker ces dernières à l'abri de la chaleur et de la lumière dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté antiactinique.

Ces récipients doivent être presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace laissé libre est rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte).

En effet, une mauvaise conservation de ces HE peut être responsable de processus de dégradation entraînant alors une possible modification des propriétés des huiles ou une remise en cause de leur caractère d'innocuité.

(Bruneton J.).

IV.1.2. HE des fleurs et les produits dérivés.

IV.1.2.1. HE de néroli bigarade.

IV.1.2.1.1. Définition.

Il s'agit de l'HE contenue dans les fleurs du bigaradier et dont la dénomination vient du nom d'une dame française, Anne-Marie de la Trémoille, princesse des Ursins (Paris 1642 - Rome 1722), devenue Princesse de Nerola par son mariage avec Flavio Orsini, Duc de Bracciano, qui en faisait grand usage au XVII^{ème} siècle lorsqu'elle en parfumait ses gants (Brosse J.).

L'HE de néroli issue de l'oranger amer est appelée HE de néroli bigarade afin de la distinguer de l'HE de néroli Portugal et de l'HE de néroli citronnier provenant respectivement de l'oranger doux et du citronnier (Anonis D.P.).

Cette huile figure à la Pharmacopée européenne 3^{ème} édition addendum 1998 sous le nom d'HE de fleur d'oranger amer (Bruneton J.). Sa teneur dans les fleurs peut varier entre 0,1 et 0,6% (Wagner H., et al.).

IV.1.2.1.2. Dénomination diverses.

Latin :	<i>Aurantii amari floris aetheroleum</i> (Martindale)
Français :	Huile essentielle de néroli bigarade (Anonis D.P.), huile essentielle de fleur d'oranger amer (Pharmacopée européenne 3 ^{ème} édition addendum 1998)
Anglais :	Bitter-orange flower oil, bitter-orange neroli oil, orange flower oil, orange-flower oil (Martindale)
Espagne :	Esencia de azahar (Martindale)
Italie :	Essência de flor de laranjeira (Martindale)
Allemand :	Oleum Neroli (Martindale)

IV.1.2.1.3. Mode d'obtention.

L'HE de néroli bigarade est obtenue par hydrodistillation des bourgeons floraux de l'oranger amer à l'état frais (Weil P.). Cette hydrodistillation s'effectue dans des alambics à double fond dans lesquels les fleurs sont directement en contact avec l'eau bouillante. Pour des alambics de capacité de 700 litres, le remplissage se fera avec 250 à 300 kg de fleurs et 1,5 fois ce poids en eau, à titre indicatif (Giraud N.).

L'hydrodistillation est menée de manière à obtenir un litre d'eau distillée (eau distillée de fleur d'oranger) pour un kilogramme de fleurs mis en œuvre (Weil P.).

Dans des conditions opératoires normales, la durée moyenne de distillation est de quatre heures pour un rendement moyen en HE de 0,1% (Richard H., et al.).

Ce rendement peut varier en fonction de certains facteurs tels que :

- la provenance géographique des fleurs.
- le séchage des fleurs (Giraud N.).
- le climat : un temps chaud et ensoleillé augmente le rendement en HE car les fleurs seront moins gorgées d'eau.
- la saison de récolte : plus la récolte est avancée dans le temps, plus le rendement en HE est important (Weil P.).

Ainsi, le rendement en HE de néroli bigarade fluctue entre 0,700 kg et 1,200 kg pour une tonne de fleurs traitées (0,07 à 0,12%) (Giraud N.), alors que sa teneur dans les fleurs varie de 0,1 à 0,6% (Wagner H., et al.).

De manière générale, le rendement dépasse rarement 0,1% et le plus souvent il oscille entre 0,05 et 0,1%. Il est à noter que fréquemment l'eau de distillation (eau distillée de fleur d'oranger) peut encore contenir une petite fraction dissoute d'HE de néroli bigarade pour un rendement maximum de 0,01% (Boelens M.H., et al.).

A titre d'exemple, dans les années 80, la production annuelle de la ville de Grasse (Alpes-Maritimes) était d'environ 1000 kg d'HE de néroli bigarade (Weil P.).

IV.1.2.1.4. Identification.

Elle repose dans un premier temps sur l'examen des chromatogrammes obtenus lors de l'essai du profil chromatographique. Les temps de rétention des pics principaux du chromatogramme de la solution à examiner sont confrontés à ceux du chromatogramme de la solution témoin : ils doivent être semblables.

Une deuxième méthode d'identification consiste à examiner les chromatogrammes obtenus dans l'essai du bergaptène sous lumière ultra-violette à 365 nm :

- Avant pulvérisation du réactif, le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner doit présenter une bande correspondant à l'antranilate de méthyle similaire (position, fluorescence) à celle obtenue avec la solution témoin.
- Après pulvérisation du réactif, le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner doit présenter dans la moitié supérieure une bande de fluorescence orange-brun correspondant à l'acétate de linalyle et dans la moitié inférieure une bande de fluorescence orange-brun correspondant au linalol. Ces deux bandes doivent être semblables, quant à leur position et leur fluorescence, aux bandes du chromatogramme de la solution témoin ; ce dernier présentant en plus une

bande de fluorescence vert-jaune correspondant au bergaptène qui n'existe pas sur le chromatogramme de la solution à examiner (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

IV.1.2.1.5. Essais.

IV.1.2.1.5.1. Densité, indice de réfraction, angle de rotation optique et indice d'acide.

Densité	0,866 - 0,880
Indice de réfraction	1,468 - 1,474
Angle de rotation optique	Compris entre +1,5° et +11,5°
Indice d'acide	≤2

IV.1.2.1.5.2. Essai du bergaptène.

Il s'effectue par le biais d'une chromatographie sur couche mince sur une plaque recouverte de gel de silice. La solution à examiner est constituée par la dissolution de 0,1 g d'HE de néroli bigarade dans de l'alcool R complétée ensuite à 5,0 ml avec le même solvant.

La solution témoin est constituée de 5 µl d'anthranilate de méthyle R, de 10 µl de linalol R, de 20 µl d'acétate de linalyle R, de 10 mg de bergaptène complétée à 10 ml avec de l'alcool R.

Après avoir effectué deux dépôts de 10 µl chacun, le développement s'effectue sur un parcours de 15 cm dans un mélange d'acétate d'éthyle R et de toluène R (15 : 85 V/V). Après séchage à l'air, le chromatogramme obtenu est examiné en lumière ultra-violette à 365 nm.

Le chromatogramme de la solution témoin présente une bande de fluorescence bleue au milieu de la plaque (anthranilate de méthyle) et au dessous une bande de fluorescence jaune-vert (bergaptène). Après pulvérisation du réactif (solution d'aldéhyde anisique R) et chauffage de la plaque à 100-105°C pendant 10 minutes, le chromatogramme est à nouveau examiné en lumière ultra-violette à 365 nm. Celui de la solution à examiner ne présente pas de bande correspondant à celle du bergaptène de la solution témoin.

IV.1.2.1.5.3. Profil chromatographique.

Il est déterminé par chromatographie en phase gazeuse.

La solution à examiner est l'HE de néroli bigarade.

La solution témoin est un mélange de :

1. 20 µl de β-pinène R
2. 5 µl de sabinène R

3. 40 µl de limonène R
 4. 40 µl de linalol R
 5. 20 µl d'acétate de linalyle R
 6. 5 µl d' α -terpinéol R
 7. 5 µl d'acétate de néryle R
 8. 5 µl d'acétate de géranyle R
 9. 5 µl de trans-nérolidol R
 10. 5 µl d'anthranilate de méthyle R
- dans 1 ml d'hexane R.

La chromatographie est réalisée en utilisant une colonne de silice fondue recouverte de macrogol 20000 R en phase greffée. Le gaz vecteur est l'hélium utilisé au débit de 1,5 ml/min. Le détecteur est à ionisation de flamme. Le rapport de division est de 1/100. La température de la colonne est maintenue à 75°C pendant 4 minutes puis elle est augmentée de 4°C par minute jusqu'à 230°C, température à laquelle elle est maintenue pendant 20 minutes. Les températures de la chambre à injection et du détecteur sont maintenues à 270°C.

Dans un premier temps, 0,1 µl de solution témoin est injecté. Les constituants sont alors élués dans l'ordre donné pour la préparation de la solution témoin (voir ci-dessus). Le temps de rétention de chaque molécule doit être noté.

L'essai ne sera valable que si :

- le nombre de plateaux théoriques n'est pas inférieur à 30000, calculé sur le pic du limonène à 110°C.
- la résolution entre les pics correspondant respectivement au β -pinène et au sabinène n'est pas inférieure à 1,5.

Dans un deuxième temps, 0,2 µl de solution à examiner est injecté. Les composants de cette solution doivent être localisés sur le chromatogramme en utilisant les temps de rétention déterminés avec le chromatogramme de la solution témoin. Ensuite, les teneurs pour cent de ces composants doivent être calculées par le procédé de normalisation.

Ces teneurs doivent être comprises entre les valeurs suivantes :

acétate de géranyle	1,5 à 4%
acétate de linalyle	3 à 16%
acétate de néryle	1 à 3%
anthranilate de méthyle	0,1 à 1%
limonène	9 à 18%
linalol	18 à 42%
trans-nérolidol	1 à 9%
β -pinène	7 à 17%
α -terpinéol	2 à 7%

(Pharmacopée européenne 4^{ème} édition)

IV.1.2.1.6. Conservation.

L'HE de fleur d'oranger amer doit être conservée comme indiquée précédemment dans la partie IV.1.11. (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

IV.1.2.1.7. Caractères organoleptiques

Norme NFT 75 - 202 (AFNOR).

Aspect :	L'HE de néroli bigarade est un liquide mobile et limpide.
Couleur :	Elle est jaune pâle à jaune ambrée avec une légère fluorescence bleutée.
Odeur :	Elle est caractéristique et rappelle les fleurs du bigaradier : sucrée, riche, fleurie (Maxwell-Hudson C.).
Saveur :	L'HE de néroli bigarade possède une saveur aromatique et douce (Martindale).

Remarque : A propos de l'odeur exhalée par cette HE, Anonis parlait de « son insaisissable note de tête » (Anonis D.P.).

IV.1.2.1.8. Propriétés physico-chimiques

Norme NFT 75 - 202 (AFNOR).

▪ Caractères physiques.

Selon la provenance de l'huile essentielle de néroli, il peut y avoir une différence au niveau des propriétés physico-chimiques.

	France	Italie	Afrique du Nord
Densité à 20°C	0,866 - 0,871	0,866 - 0,879	0,866 - 0,876
Indice de réfraction à 20°C	1,469 - 1,474		1,470 - 1,474
Pouvoir rotatoire à 20°C	+1,5° à +7°	+2,5° à +11,5°	+6° à +11°

Miscibilité à l'éthanol à 20°C :

→ Pour un volume d'HE de France ou d'Italie, il ne doit pas être nécessaire d'utiliser plus de 2 volumes d'éthanol à 80% (V/V) à 20°C pour obtenir une solution limpide.

→ Pour un volume d'HE d'Afrique du Nord, il ne doit pas être nécessaire d'utiliser plus de 3,5 volumes d'éthanol à 85% (V/V) à 20°C pour obtenir une solution limpide.

Lors de leur dilution avec de l'éthanol de concentration appropriée, les solutions présentent un léger trouble. Puis au repos, elles s'éclaircissent en laissant un dépôt.

Elle est miscible à :

- l'alcool absolu 96°
- la paraffine liquide
- les huiles grasses (Martindale)

- l'éther
- l'éther de pétrole (Pharmacopée européenne 4^{ème} édition).

L'HE de néroli bigarade est légèrement soluble dans l'eau (Merck index).

- Caractères chimiques.

Ici aussi, selon la provenance des HE, les valeurs exigées sont légèrement différentes.

	France	Italie	Afrique du Nord
Indice d'acide	≤ 2	≤ 2	≤ 2
Indice d'ester	25 - 44	20 - 44	28 - 50
Teneur en anthranilate de méthyle (Giraud N.)	0,45 - 1,10%		

IV.1.2.1.9. Falsifications.

Le prix de revient très élevé de l'HE de néroli bigarade a conduit à son adultération par des produits moins coûteux tels que l'HE de petitgrain bigarade naturelle ou déterpénée.

Cette falsification est mise en évidence par la mesure de l'indice d'ester anormalement élevé du fait d'une proportion importante d'acétate de linalyle (=ester) dans l'HE de petitgrain bigarade.

Pour pallier l'augmentation de cet indice, les fraudeurs y ajoutent du linalol (Giraud N.).

Il est également possible de déceler la présence d'HE de petitgrain bigarade dans l'HE de néroli bigarade en versant dans un tube quelques gouttes de l'échantillon à analyser et peu à peu du sulfure de carbone.

Si l'HE est pure, elle se trouble au contact du dissolvant ; le mélange devient ensuite limpide avec un excès de réactif. Si l'huile est souillée par la présence d'HE de petitgrain bigarade, elle se dissout complètement dans un premier temps pour devenir opaque et blanchâtre quand on ajoute une plus grande quantité de dissolvant (Dorvault F.).

Enfin, l'HE de néroli bigarade peut également subir une adultération par d'autres substances chimiques telles que :

- l'acétate de géranyle
- l'acétate de linalyle
- l'anthranilate de méthyle
- le géraniol
- l'indole
- le linalol
- le nérol
- le terpinéol...(Giraud N.)

IV.1.2.1.10. Composition chimique.

IV.1.2.1.10.1. Analyse chronologique.

L'analyse chronologique de la composition chimique de l'HE de néroli bigarade permet de mettre en évidence qu'à la fin du XIX^{ème} siècle et lors des cinq premières décennies du XX^{ème} siècle des études montraient la présence d'un certain nombre de composés chimiques :

- acétate de linalyle et de néryle
- anthranilate de méthyle
- camphène
- farnésol
- géraniol
- indole
- jasmone
- linalol
- nérolidol
- β -ocimène
- α -pinène
- α -terpinéol (Anonis D.P.).

En 1959, Triebs et Bournot détectèrent la présence d'autres molécules en plus de celles déjà citées ci-dessus :

- acétate de géranyle
- nérol
- limonène

En 1962, l'étude de Bigi sur la composition chimique de l'HE de néroli montrait la présence des mêmes molécules que celles mentionnées précédemment.

Neuf ans plus tard, Mc Hale mettait en évidence la présence du (E)- β -ocimène dans l'HE de néroli (un des deux isomères du β -ocimène) (Lawrence B.M., 1997).

En 1973, Corbier et Teisseire découvraient un nouveau constituant de l'HE de néroli, le 2,5-diméthyl-2-vinyl-4-hexanal (Boelens M.H., et al.). Cependant, cette molécule n'apparaîtra pas dans les autres études sur la composition chimique de l'HE de néroli.

En 1981, dans l'étude chimique qualitative et quantitative sur l'HE de néroli menée par Bucellato, on pouvait noter la présence de quatre nouveaux composés :

- citronellol
- myrcène
- (Z)- β -ocimène (2^{ème} isomère du β -ocimène)
- β -pinène

La même année Prager et Miskiewicz détectaient trois autres molécules chimiques dans l'HE de néroli en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

- sabinène
- terpinén-4-ol + β -caryophyllène

Cinq ans plus tard, en 1986, Srinivas, en comparant la composition chimique de cinq échantillons d'HE de néroli d'origines diverses (Algérie, Egypte, Italie, Espagne, Tunisie), mettait en évidence la présence de nouveaux composés :

- acétate de farnésyle (détecté dans l'HE espagnole)
- *p*-cymène (non détecté dans l'HE algérienne)
- oxydes de *cis* et *trans*-linalol
- β -phellandrène
- α -terpinène (détecté dans les HE égyptienne et italienne)
- γ -terpinène
- β -terpinéol
- terpinolène

Srinivas pour cette étude utilisera la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Remarque : en anticipant sur la suite du chapitre, nous pouvons dès à présent noter que la composition chimique de l'HE de néroli peut varier selon son origine géographique puisque les molécules citées ci-dessus n'ont pas été détectées dans tous les échantillons.

Toujours en 1986, une autre étude menée par Lin et al., utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, rendait compte de l'existence d'autres composés dans l'HE de néroli bigarade :

- acétate d' α -terpinyle
- géraniol
- α -humulène
- γ -muurolène
- néral
- (E) et (Z)-nérolidol
- nonanal
- *trans*-pinocarvéol
- α -thuyène

En 1988, Ma et al., en effectuant l'analyse d'une HE de néroli produite en Chine par la combinaison de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et des indices de rétention, dévoilaient la présence de nouvelles molécules chimiques :

- acide 1,2 benzènedicarboxylique
- acide hexadécanoïque
- alcool benzylique
- aromadendrène
- 3-cyclohexénylcarbinol
- (E)-hexén-2-ol

La même année, Boelens et Sindreu identifiaient d'autres molécules présentes dans une HE de néroli bigarade espagnole.

- bisabolène
- δ -cadinène
- δ -3-carène
- α -*p*-diméthylstyrène

- β -élémane
- (E) et (Z)-farnésène
- (E) et (Z)-farnésol
- germacrène-D
- périllène
- α -phellandrène
- sélinène
- valencène

En 1991, Boelens et Oporto identifiaient d'autres composés chimiques en analysant une HE de néroli espagnole :

- acétates de citronellyle et limonén-10-yle
- δ -cadinol
- citronellal
- jasmonate de *cis*-méthyle
- N-méthylanthranilate de méthyle
- α -muurolol
- octanal
- oxyde de caryophyllène
- oxydes de *cis* et *trans*-limonène
- 2-phénéthanal
- 2,2,6-triméthyl-6-vinyltétrahydropyrane (Lawrence B.M., 1997).

En 1993, une étude de recensement effectuée sur la composition chimique de l'HE de néroli bigarade et similaire à une autre étude de recensement plus ancienne (1984) n'avait pas mis en évidence la présence de nouvelles molécules chimiques. L'étude de recensement donna les résultats suivants :

➤ **Hydrocarbures monoterpéniques (35%)**

- camphène
- *p*-cymène
- limonène
- myrcène
- β -ocimène
- α -pinène
- β -pinène
- sabinène
- α -terpinène
- terpinolène

➤ **Composés monoterpéniques oxygénés (47%)**

- acétate de géranyle
- acétate de linalyle
- acétate de néryle
- citronellool
- géraniol
- linalol (30%)
- nérol
- D- α -terpinéol

- *Dérivés sesquiterpéniques*
 - caryophyllène
 - farnésol
 - nérolidol (6%)

- *Composés azotés*
 - anthranilate de méthyle (0,6%)
 - indole

- *Divers constituants dont :*
 - alcool phényléthylique
 - jasmone

Nous pouvons nous rendre compte que lors de cette étude un grand nombre de molécules chimiques détectées antérieurement n'apparaissent pas (Giraud N.-Weil P.).

En 1994, une étude dirigée par Ohloff rapportait l'existence de quelques nouvelles molécules dans l'HE de néroli bigarade, parmi celles déjà détectées :

- isobutyl-3-méthoxy-pyrazine (1ppm)
- 1-nitro-2-phényléthane (0,15%)
- phénylacétonitrile (0,1%)

Deux ans plus tard (1996), Mondello et al. détectaient la présence de nouveaux composés chimiques dans l'HE de néroli bigarade :

- *trans*- α -bergamotène
- δ -cadinol
- globulol
- *cis*-*p*-menth-2-én-1-ol
- *trans*-*p*-menth-2-én-1-ol
- 6-méthyl-5-heptén-2-one
- *trans*-pipéritol
- spathuléol
- tricyclène

En 1997, trois nouvelles molécules étaient détectées dans une étude menée par Boelens et Boelens :

- acétate d'hexyle
- acétate de 2-phénéthyle
- γ -élémane (Lawrence B.M.,1997).

Toutes ces études ne furent pas similaires au niveau des résultats. Les plus anciennes ne permettaient de mettre en évidence qu'un nombre restreint de molécules ; ceci étant dû aux techniques d'analyse moins performantes. Au fil du temps et avec le développement de ces techniques, la composition chimique de l'HE de néroli a pu être étudiée de manière plus rigoureuse et régulièrement, au cours des différentes études, de nouvelles molécules chimiques ont pu être détectées et identifiées.

Nous allons étudier un peu plus en détail la composition chimique de l'HE de néroli bigarade en prenant comme étude de référence celle de Boelens et Boelens en 1997 puisqu'il s'agit de l'analyse la plus récente. Tout d'abord cinq grands groupes

chimiques sont à la base de la composition chimique de l'HE de néroli (Boelens M.H., et al.) :

- hydrocarbures monoterpéniques 40%
- composés monoterpéniques oxygénés 50%
- hydrocarbures sesquiterpéniques 1%
- composés sesquiterpéniques oxygénés 7%
- composés divers 2%

La composition chimique suivante rend compte de la répartition de ces différents groupes chimiques dans l'HE de néroli ainsi que de l'identité des molécules chimiques la composant :

➤ Hydrocarbures monoterpéniques	33,33-47,11%
▪ camphène	0,05-0,08%
▪ <i>p</i> -cymène	0,01-0,05%
▪ limonène	12,88-17,89%
▪ myrcène	1,40-3,09%
▪ (E)- β -ocimène	5,60-7,00%
▪ (Z)- β -ocimène	0,10-0,43%
▪ α -pinène	0,75-1,13%
▪ β -pinène	10,52-13,00%
▪ sabinène	1,40-2,80%
▪ γ -terpinène	0,01-0,51%
▪ α -terpinène	0,18-0,48%
▪ terpinolène	0,42-0,60%
▪ α -thuyène	0,01-0,05%
➤ Composés monoterpéniques oxygénés	35,51-69,85%
○ <u>Alcools monoterpéniques</u>	
▪ géraniol	0,80-2,28%
▪ linalol	31,37-47,05%
▪ nérol	0,32-0,82%
▪ terpinén-4-ol	0,31-1,32%
▪ α -terpinéol	1,07-3,45%
○ <u>Aldéhydes monoterpéniques</u>	
▪ gèranial	0,05-0,10%
▪ néral	0,01-0,03%
○ <u>Esters monoterpéniques</u>	
▪ acétate de gèranyle	0,70-2,95%
▪ acétate de linalyle	0,58-10,00%
▪ acétate de néryle	0,29-1,55%
▪ acétate d' α -terpinyle	0,01-0,30%
➤ Hydrocarbures sesquiterpéniques	0,72-1,1%
▪ δ -cadinène	0,01-0,03%
▪ β -caryophyllène	0,54-0,70%

▪ <u>γ-élémente</u>	0,01-0,02%
▪ (E,E)-α-farnésène	0,05-0,10%
▪ (E)-β-farnésène	0,05-0,10%
▪ α-humulène	0,06-0,15%
➤ Composés sesquiterpéniques oxygénés	2,87-4,96%
○ <u>Alcools sesquiterpéniques</u>	
▪ (E,Z)-farnésol	0,72-1,59%
▪ (E)-nérolidol	2,15-3,37%
➤ Composés divers	0,43-1,01%
▪ <u>acétate d'hexyle</u>	<u>0,01-0,05%</u>
▪ <u>acétate de 2-phénéthyl</u>	<u>0,03%</u>
▪ alcool 2-phényléthylique	0,06-0,25%
▪ anthranilate de méthyle	0,10-0,22%
▪ indole	0,10-0,16%
▪ jasmonate de <i>cis</i> -méthyle	0,01%
▪ <i>cis</i> -jasmone	0,01-0,05%
▪ oxyde de <i>cis</i> -linalol	0,01-0,07%
▪ oxyde de <i>trans</i> -linalol	0,10-0,20%

(Lawrence B.M., 1997).

La composition chimique de cette HE de néroli répond aux valeurs attendues du profil chromatographique donné par la Pharmacopée européenne 4^{ème} édition :

Composés chimiques	Valeurs de la Pharmacopée (%)	Valeurs obtenues par Boelens et Boelens (%)
Acétate de géranyle	1,5 à 4	0,70-2,95
Acétate de linalyle	3 à 16	0,58-10
Acétate de néryle	1 à 3	0,29-1,55
Anthranilate de méthyle	0,1 à 1	0,10-0,22
Limonène	9 à 18	12,88-17,89
Linalol	18 à 42	31,37-47,05
<i>trans</i> -nérolidol	1 à 9	2,15-3,37
β-pinène	7 à 17	10,52-13
α-terpinéol	2 à 7	1,07-3,45

Les résultats de Boelens et al. de 1997 montrent le linalol comme composé majoritaire (en gras dans la liste ci-dessus) et les composés monoterpéniques oxygénés comme groupe chimique prépondérant.

Par rapport aux analyses précédentes, trois nouvelles molécules ont pu être détectées et identifiées (soulignées dans la liste ci-dessus) :

- acétate d'hexyle
- acétate de 2-phénéthyle
- γ-élémente

Cependant, même si cette étude est la plus récente, un certain nombre de molécules chimiques détectées lors d'analyses antérieures ne sont pas apparues dans cette dernière étude. Parmi ces molécules, nous pouvons citer :

- 2,5-diméthyl-2-vinyl-4-hexanal
(étude de Corbier et Teisseire, 1973)
- citronellol
(étude de Buccellato, 1981)
- acétate de farnésyle
- β -phellandrène
- β -terpinéol
(étude de Srinivas, 1986)
- γ -muurolène
- nonanal
- *trans*-pinocarvéol
(étude de Lin, 1986)
- acide 1,2-benzènedicarboxylique
- acide hexadécanoïque
- alcool benzylique
- aromadendrène
- 3-cyclohexénylcarbinol
- (E)-hexén-2-ol
(étude de Ma, 1988)
- bisabolène
- δ -3-carène
- α -*p*-diméthylstyrène
- β -élémente
- (Z)-farnésène
- germacrène-D
- périllène
- α -phellandrène
- sélinène
- valencène
(étude de Boelens et Sindreu, 1988)
- acétate de citronellyle
- acétate de limonén-10-yle
- δ -cadinol
- citronellal
- N-méthylantranilate de méthyle
- α -muurolol
- octanal
- oxyde de caryophyllène
- oxyde de *cis* et *trans*-limonène
- 2-phénéthanal
- 2,2,6-triméthyl-6-vinyltétrahydropyrane
(étude de Boelens et Oporto, 1991)
- 1-nitro-2-phényléthane
- phénylacétonitrile
(étude de Ohloff, 1994)
- *trans*- α -bergamotène
- globulol

- *cis-p*-menth-2-én-1-ol
- *trans-p*-menth-2-én-1-ol
- 6-méthyl-5-heptén-2-one
- *trans*-pipéritol
- spathuléol
- tricyclène

(étude de Mondello, 1996)

Le fait que ces molécules chimiques n'apparaissent pas dans l'analyse de Boelens et Boelens peut être dû à certains facteurs responsables de la variabilité de la composition chimique de l'HE de néroli.

Comme nous l'avons déjà vu dans les généralités sur les HE, ces facteurs de variabilité peuvent être :

- le degré de maturité du végétal
- l'état de la matière
- l'existence de plusieurs chimiotypes pour une même espèce
- les facteurs extrinsèques (température, humidité relative...)
- le mode d'obtention de l'HE
- la technique d'analyse de la composition chimique

IV.1.2.1.10.2. Analyse des différents groupes chimiques constituant l'HE de néroli bigarade.

LES MONOTERPENES.

Exceptés les hémiterpènes (qui sont rares) ce sont les composés les plus simples de la série des terpènes ($C_{10}H_{16}$).

Ils sont constitués du couplage de deux unités isopréniques (C_5).

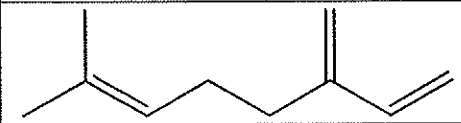
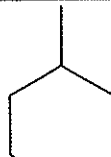
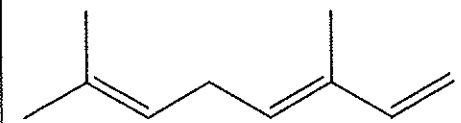
Le point de départ de la formation de ces monoterpènes réguliers est le pyrophosphate de géranyle (GPP).

Ils font partie des terpènes les plus volatils du fait de leur masse moléculaire peu élevée (Bruneton J.).

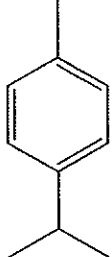
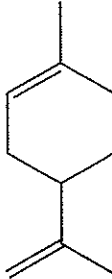
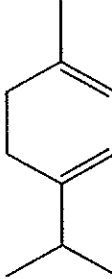
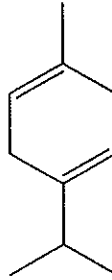
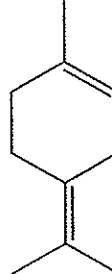
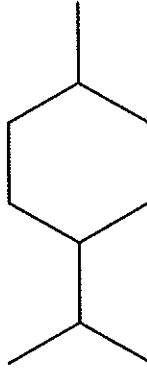
⇒ Hydrocarbures monoterpéniques.

Ce sont des composés souvent caractéristiques d'arômes. En fonction de la nature de leur cycle, on va distinguer les hydrocarbures acycliques, monocycliques ou bicycliques (Bruneton J.-Richard H., et al).

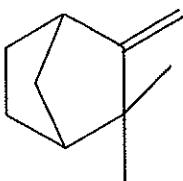
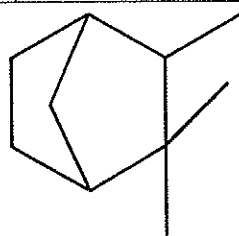
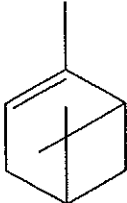
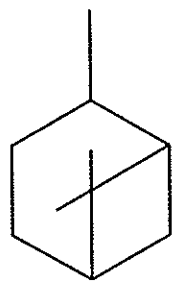
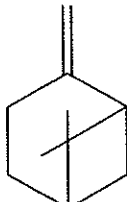
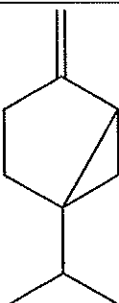
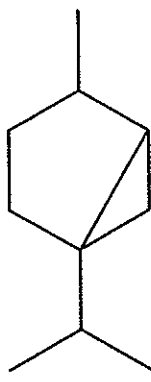
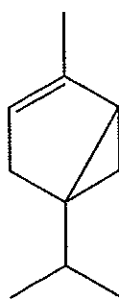
- Hydrocarbures monoterpéniques acycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
myrcène		 myrcane
(Z)-β-ocimène (E)-β-ocimène		

▪ Hydrocarbures monoterpéniques monocycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
<i>p</i> -cymène		
limonène		
α -terpinène		
γ -terpinène		
terpinolène		<p data-bbox="1107 878 1254 909"><i>p</i>-menthane</p>  <p data-bbox="1107 1290 1254 1321"><i>p</i>-menthane</p>

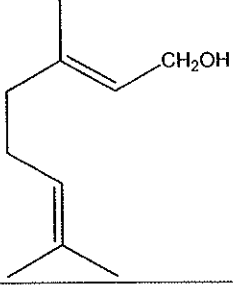
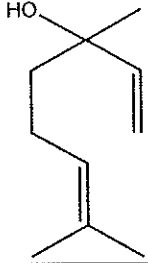
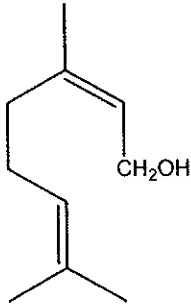
▪ Hydrocarbures monoterpéniques bicycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
camphène		 isocamphane
α -pinène		 pinane
β -pinène		
sabinène		 thuyane
α -thuyène		

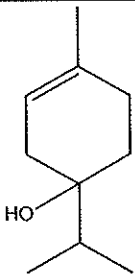
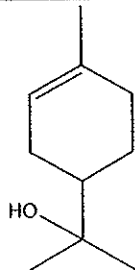
⇒ Composés monoterpéniques oxygénés.

L'existence de ces molécules fonctionnalisées est due à la haute réactivité des cations intermédiaires lors de la réaction de synthèse des monoterpènes réguliers. Ces molécules sont aussi caractéristiques de certains arômes (Bruneton J.-Richard H., et al.).

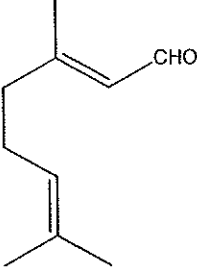
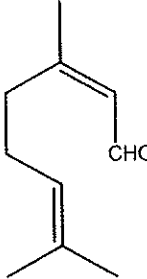
▪ Alcools acycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
géraniol		myrcane
linalol		
nérol		

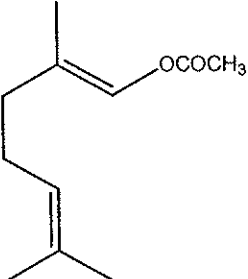
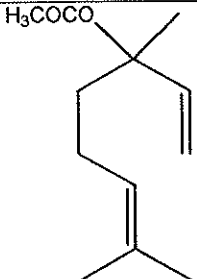
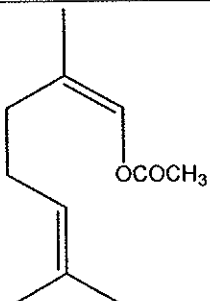
▪ Alcools cycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
terpinén-4-ol		p-menthane
α-terpinéol		

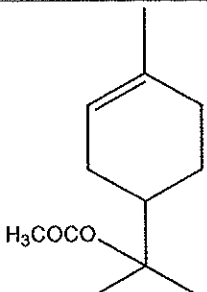
▪ Aldéhydes acycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
géraniol		myrcane
néral		

▪ Esters acycliques.

Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
acétate de géranyle		myrcane
acétate de linalyle		
acétate de néryle		

▪ Esters monocycliques.

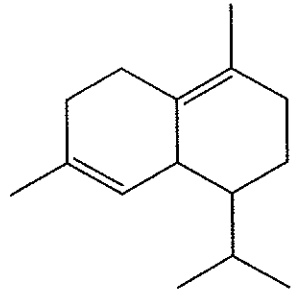
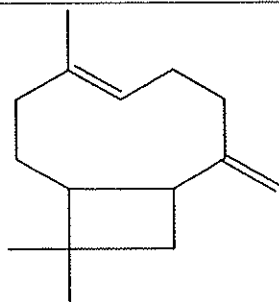
Molécules	Structure chimique	Noyau chimique de base
acétate d' α -terpinyle		<i>p</i> -menthane

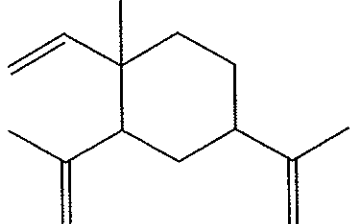
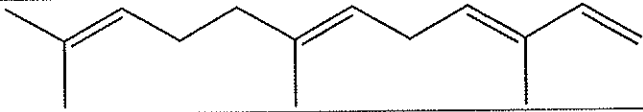
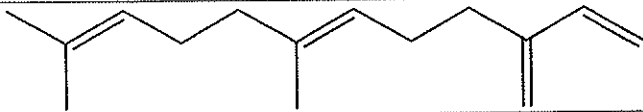
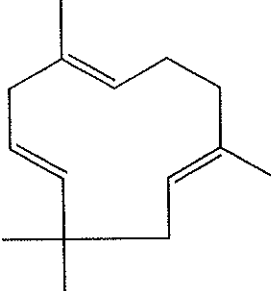
LES SESQUITERPENES (Bruneton J. - Richard, et al. - Teisseire P.J.).

Comme les monoterpènes, ils font partie des terpènes volatils. Ils sont constitués du couplage de trois unités isopréniques donnant $C_{15}H_{24}$. Ils ont pour précurseur commun à leur synthèse : le pyrophosphate de farnésyle (FPP) qui résulte de l'addition d'une molécule de pyrophosphate d'isopentényle (IPP) sur le pyrophosphate de géranyle (GPP). Ces sesquiterpènes peuvent subir des cyclisations intramoléculaires additionnelles, des réarrangements, des oxydations donnant lieu à la formation d'un nombre important de structures.

De nombreux sesquiterpènes sont des constituants habituels des HE des végétaux supérieurs ; ils sont ainsi souvent responsables des propriétés pharmacologiques de ces fractions volatiles.

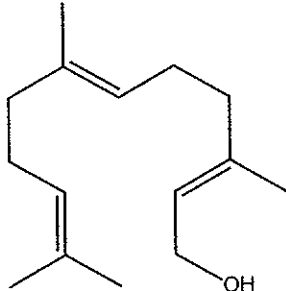
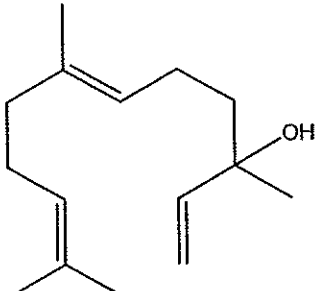
⇒ Hydrocarbures sesquiterpéniques.

Molécules	Structure chimique
cadinène	
β -caryophyllène	

γ -élémente	
(E,E)- α -farnésène	
(E)- β -farnésène	
α -humulène	

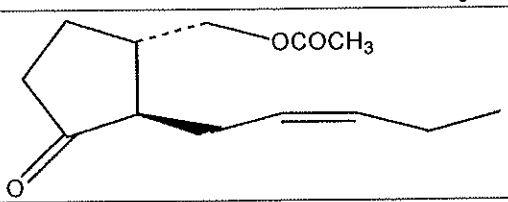
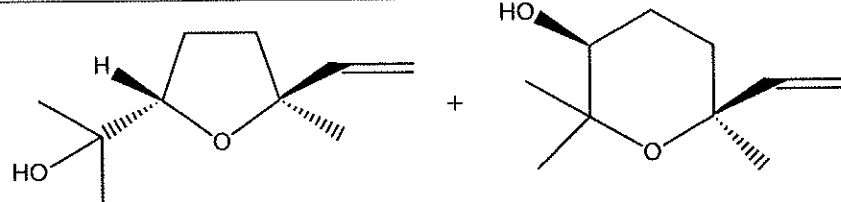
⇒ Composés sesquiterpéniques oxygénés.

- Alcools.

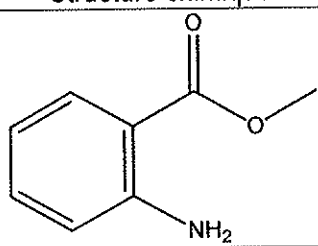
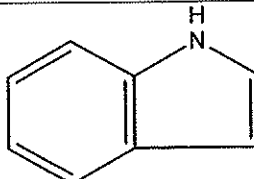
Molécules	Structure chimique
(E,Z)-farnésol	
(E)-nérolidol	

COMPOSES DIVERS.

⇒ Composés issus de la dégradation d'acides gras.

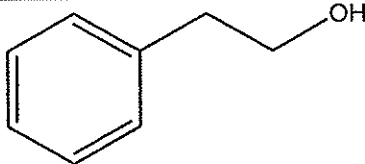
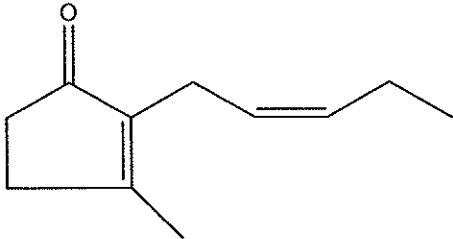
Molécules	Structure chimique
acétate d'hexyle	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_5-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3$
jasmonate de <i>cis</i> -méthyle	
oxydes de <i>cis</i> - et <i>trans</i> -linalol	

⇒ Composés azotés.

Molécules	Structure chimique
anthranilate de méthyle	
indole	

Ces deux molécules sont des composés olfactifs caractéristiques de la fleur d'oranger amer. Elles ont contribué à la classification de cette fleur, par Kaiser en 1988, dans le groupe des senteurs naturelles : « image florale blanche », au même titre que la fleur de robinier faux acacia, le jasmin, le gardénia, le chèvrefeuille (Boelens M.H., et al.).

⇒ Autres composés.

Molécules	Structure chimique
Alcool-2-phényléthylique = 2-phényléthanol	
cis-jasmone	

IV.1.2.1.10.3. Variabilité de la composition chimique de l'HE de néroli bigarade.

La composition chimique de l'HE de Néroli bigarade n'est pas immuable. Elle peut varier quantitativement et qualitativement en fonction de certains facteurs tels que l'origine géographique du végétal, la méthode d'obtention ou d'analyse de l'HE (Bruneton J.).

- Ainsi, en 1986, lors d'une étude par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, Srinivas compara la composition chimique de l'HE de fleur d'oranger provenant de cinq pays différents : Algérie, Egypte, Italie, Espagne, Tunisie.

Les données de l'étude figurent dans le tableau ci-dessous (Lawrence B.M., 1997) :

HE	Algérienne	Egyptienne	Italienne	Espagnole	Tunisienne
Composition chimique(%)					
acétate de farnésyle	-	-	-	0,03	-
acétate de linalyle	5,29	9,45	4,90	2,48	3,84
anthranilate de méthyle	0,31	0,85	0,36	0,13	0,26
citronellol	4,08	2,21	2,81	3,59	3,08
p-cymène	-	0,15	0,17	0,56	0,05
farnésol	-	0,72	-	1,01	2,17
géraniol	1,99	2,00	1,71	1,50	4,09
limonène	15,35	18,12	15,05	15,60	12,58
linalol	25,48	29,99	31,23	38,81	29,00
myrcène	2,07	3,76	9,34	1,87	1,97
nérol	0,79	0,64	0,81	0,48	0,77
nérolidol	6,88	2,76	3,03	4,61	4,33
oxyde de cis-linalol	0,05	0,05	0,08	0,08	0,11

oxyde de <i>trans</i> -linalol	0,05	0,02	0,05	0,24	0,02
β -phellandrène + (Z)- β -ocimène	1,02	0,98	0,86	0,66	0,78
α -pinène	0,95	0,86	1,24	1,18	1,35
β -pinène	9,31	7,42	8,22	9,97	14,08
sabinène	7,24	5,27	9,12	7,93	9,53
α -terpinène	-	0,59	0,74	-	-
γ -terpinène	7,92	8,34	7,34	2,75	6,98
α -terpinéol	2,26	2,59	2,96	3,09	3,35
β -terpinéol	0,60	0,32	0,50	0,85	0,52
terpinén-4-ol	0,17	1,59	1,90	0,43	0,53
terpinolène	0,45	0,71	0,66	0,17	0,43

Tableau 1 : composition chimique de l'HE de néroli bigarade provenant de 5 pays différents.

Les résultats de cette analyse permirent de rendre compte de la variabilité de la composition chimique de l'HE de néroli bigarade en fonction de son origine géographique.

Ainsi, concernant les variations qualitatives, le *p*-cymène a été détecté dans toutes les HE sauf dans celle provenant d'Algérie. A l'inverse, l'acétate de farnésyle n'a été retrouvé que dans l'HE espagnole. L' α -terpinène n'est présent que dans deux HE sur cinq (Egypte et Italie).

Le farnésol, quant à lui, se retrouve dans trois essences : Egypte, Espagne, Tunisie.

Concernant les variations quantitatives, nous pouvons citer à titre d'exemples :

- Le terpinén-4-ol est en quantité onze fois plus importante dans l'HE italienne (1,90%) que dans l'HE algérienne (0,17%).
- Il existe un facteur multiplicateur de 6,5 entre la quantité d'anthranilate de méthyle (constituant spécifique de l'HE de néroli bigarade) retrouvée dans l'HE espagnole (0,13%) et celle présente dans l'HE égyptienne (0,85%).
- Le linalol, composé majoritaire de chaque HE, est en quantité 1,5 fois plus importante dans l'HE espagnole (38,81%) que dans l'HE algérienne (25,48%).

- Toujours en 1986, Ling et ses collaborateurs effectuèrent une étude sur l'HE de fleur d'oranger amer produite dans la région du Sichuan en Chine. Ils déterminèrent que lors du stockage de l'HE la teneur en linalol diminuait et celle en oxydes de linalol augmentait de 13,3% (Lawrence B.M.,1997) ; d'où l'influence de la durée du stockage de l'HE sur sa composition chimique.

- En 1990, Germana et ses collaborateurs menèrent une étude comparative sur la composition chimique des HE de néroli bigarade issue des pétales, du pistil, des étamines de 5 clones de fleurs d'oranger amer cultivés en Sicile.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous (Lawrence B.M., 1997) :

HE	Pétales	Pistil	Étamines
Composition chimique (%)			
acétate de géranyle	0,64-3,52	0,94-5,51	4,06-5,66
acétate de néryle	0,61-0,89	0,08-1,02	0,72-3,20
anthranilate de méthyle	0,10-0,38	0,96-2,04	1,12-2,00
benzaldéhyde	0,42-0,60	0,39-0,50	-
β -caryophyllène	0,37-0,84	1,36-2,13	0,11-0,47
farnésol	0,95-2,02	0,48-1,63	29,45-34,06
géraniol	1,10-5,31	0,52-2,18	5,04-10,36
géraniol	1,39-3,65	0-0,29	12,28-14,27
limonène*	8,89-25,28	8,98-18,66	0,45-2,00
linalol	44,49-57,60	47,52-64,38	12,73-21,34
myrcène*	0,56-1,48	0,33-1,65	0,06-1,61
néral	1,85-6,67	1,92-2,51	10,32-19,20
nérol	0,31-0,91	0,10-0,47	0,44-1,02
α -pinène*	0,31-0,75	0-0,58	0-0,50
β -pinène*	7,00-11,94	0,50-9,53	0,27-0,89
sabinène*	0,27-0,56	0,08-0,71	0-0,13
α -terpinène*	1,28-7,59	7,04-10,60	0,13-1,15
α -terpinéol	0,09-0,25	2,95-5,05	2,88-3,77

Tableau 2 : composition chimique de l'HE de néroli provenant des pétales, pistil et étamines des fleurs.

Des différences de composition chimique existent entre les HE issues des pétales et du pistil d'une part et celle issue des étamines d'autre part :

- La teneur en hydrocarbures monoterpéniques (*) est plus importante dans les HE issues des pétales et du pistil que dans l'HE issue des étamines où les teneurs, notamment en limonène et en β -pinène, sont très faibles.
- L'HE provenant des étamines est plus riche en constituants oxygénés (néral, géraniol, farnésol) que les HE issues des pétales et du pistil.
- Alors que le composé majoritaire reste le linalol pour les HE provenant des deux premiers organes floraux cités, l'HE issue des étamines a pour composant principal le farnésol (en gras dans le tableau).

Cette étude a montré que les différentes parties de la fleur ont une composition quantitative différente ; et la composition chimique de l'HE de néroli est tout simplement la somme des différents composés constituant les différentes parties.

- Une autre étude, dirigée par l'équipe de Germana la même année, porta cette fois-ci sur la comparaison des compositions chimiques d'une part de l'HE issue des fleurs de l'oranger amer et d'autre part de l'HE issue des boutons de l'oranger amer. Le tableau ci-dessous rend compte des résultats de l'étude (Lawrence B.M., 1997) :

Constituants chimiques	HE issue des fleurs (%)	HE issue des boutons (%)
acétate de géranyle	1,08	0,65
acétate de néryle	0,48	0,46
anthranilate de méthyle	-	0,08
benzaldéhyde	-	0,22
β -caryophyllène*	1,23	0,11
farnésol	7,55	0,22
géraniol	1,05	0,99
géraniol	0,45	0,31
limonène*	7,15	0,49
linalol	53,19	95,21
myrcène*	1,34	0,01
néral	3,70	0,93
nérol	0,98	0,10
α -pinène*	0,25	-
β -pinène*	4,85	0,10
sabinène*	0,66	0,02
α -terpinène*	5,64	-
α -terpinéol	9,76	0,04

Tableau 3 : composition chimique de 2 HE de néroli provenant pour l'une des fleurs, pour l'autre des boutons.

L'HE issue des boutons renferme une très faible proportion d'hydrocarbures terpéniques(*) (0,73% contre 21,12% pour l'HE provenant des fleurs). En fait, le constituant majoritaire pour l'HE des boutons est représenté à plus de 95% par le linalol (en gras dans le tableau).

Là encore, on peut observer une variation de la composition chimique de l'HE de néroli bigarade qui est fonction du degré de maturité de la fleur. Lorsque la fleur n'est pas épanouie (bouton), la teneur totale en composés terpéniques oxygénés est très élevée puis elle décroît au fur et à mesure du processus de maturation.

- En 1997, Boelens et Boelens notèrent que la teneur en acétate de linalyle était réduite dans l'HE de néroli bigarade en comparaison avec une HE de fleur d'oranger amer marocaine obtenue par extraction au CO₂ supercritique.

En effet, lors du procédé de distillation permettant d'obtenir l'HE, l'acétate de linalyle subit une hydrolyse. Sa teneur en est donc diminuée dans le produit final.

	HE espagnole	HE tunisienne	HE marocaine CO ₂ supercritique
acétate de linalyle (%)	0,58-10,00	3,30	23,60

En outre, il a été déterminé que l'odeur était deux fois plus intense dans l'extrait au CO₂ que dans les HE obtenues par distillation.

On se rend compte qu'en fonction du procédé d'obtention de l'HE, sa composition chimique subit des variations ; ce qui peut affecter certains caractères organoleptiques (Lawrence B.M., 1997).

Ainsi, l'intérêt de l'extraction au CO₂ supercritique est d'obtenir des extraits dont la composition est très proche de celle des produits naturels (Bruneton J.). En effet, cette méthode d'extraction s'effectue à température suffisamment basse pour éviter la dégradation thermique des composants chimiques des fleurs d'oranger amer (Richard H., et al.).

Certaines variations de la composition chimique qualitative et quantitative de l'HE de néroli bigarade pourraient être dues à une adultération de l'HE. Cependant, cette supposition ne peut pas être affirmée au seul regard des valeurs obtenues pour tel ou tel constituant (Lawrence B.M., 1997).

IV.1.2.1.10.4. Espace de tête : « headspace ».

Il existe un moyen indirect de déterminer la composition chimique de l'HE de néroli bigarade ; il s'agit de l'étude de l'espace de tête (« headspace ») qui consiste à analyser la phase gazeuse en équilibre avec l'échantillon placé en atmosphère confinée. Cette analyse permet de déterminer la nature des composés volatils présents dans les fleurs d'oranger amer et donc dans l'HE. La méthode consiste à chauffer à des températures comprises entre 60 et 80°C les échantillons placés dans des flacons hermétiquement fermés. La vapeur surmontant les échantillons enrichis en composés les plus volatils est ensuite prélevée à l'aide d'une seringue à gaz et injectée dans le chromatogramme (Mahuzier G., et al.).

Les résultats de quelques études effectuées sur l'espace de tête des fleurs d'oranger amer sont rassemblés dans le tableau ci-dessous (Lawrence B.M., 1997).

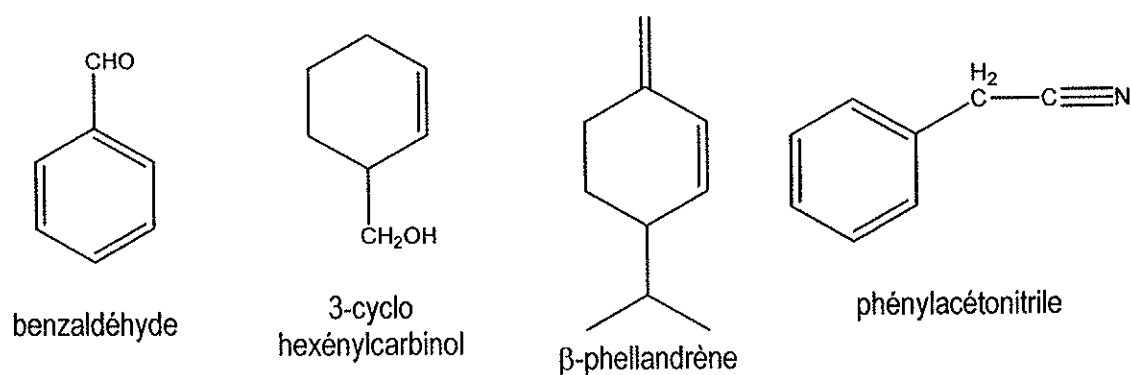
Composition chimique de l'HE de néroli, étude de Boelens et Boelens, 1997	Etude de Ma et al., 1988 (%)	Etude de Toyoda et al., 1993
acétate de géranyle	-	-
acétate d'hexyle	-	-
acétate de linalyle	16,69	X
acétate de néryle	-	-
acétate de 2-phénéthyle	-	-
acétate d' α -terpinyle	-	-
alcool 2-phényléthylique	-	X
anthranilate de méthyle	-	X
-	-	benzaldéhyde
δ -cadinène	-	-
camphène	0,08	-
β -caryophyllène	0,22	X
-	3-cyclohexénylcarbinol (0,08)	-
<i>p</i> -cymène	-	X
γ -élémyène	-	-
(E,E)- α -farnésène	-	-
(E)- β -farnésène	-	-
(E,Z)-farnésol	-	-
géraniol	-	-
géraniol	-	X

α-humulène	0,11	-
indole	-	X
jasmonate de <i>cis</i> -méthyle	-	-
jasnone	-	-
limonène	45,90	X
linalol	6,87	X
myrcène	0,96	X
néral	-	-
nérol	-	-
(E)-nérolidol	-	-
-	-	(Z)-nérolidol
(E)-β-ocimène	-	-
(Z)-β-ocimène	-	-
oxyde de <i>cis</i> -linalol	-	-
oxyde de <i>trans</i> -linalol	-	-
-	β-phellandrène (3,33)	-
-	-	phénylacétonitrile
α-pinène	-	-
β-pinène	20,95	-
sabinène	-	-
α-terpinène	-	-
γ-terpinène	-	-
terpinèn-4-ol	-	-
α-terpinéol	-	-
terpinolène	-	-
α-thuyène	1,59	-

X : produit détecté mais non quantifié.

- : produit non détecté.

Tableau 4 : comparaison de la composition chimique de 2 « headspace » des fleurs d'oranger amer.



Il est à remarquer que l'étude de Toyoda et al., en 1993 ne rend compte que de la composition qualitative de « l'headspace » ; aucune donnée numérique n'a été mentionnée.

Les résultats obtenus montrent que les molécules détectées dans les deux études sur l'espace de tête se retrouvent dans la composition chimique de l'HE de néroli, à quelques exceptions : le benzaldéhyde, le 3-cyclohexénylcarbinol, l'isomère (Z) du nérolidol, le β -phellandène et le phénylacétonitrile. Ces cinq molécules n'apparaissent pas dans l'étude de Boelens et Boelens de 1997 ; cependant elles avaient déjà été détectées dans des analyses antérieures. Il est également à noter que le composé majoritaire de l'espace de tête des fleurs d'oranger amer est le limonène (contrairement à l'HE de néroli où il s'agit du linalol). Cela vient de la volatilité plus grande du limonène par rapport au linalol.

IV.1.2.2. HE de néroli bigarade synthétique.

L'obtention de l'HE de néroli bigarade nécessite la cueillette manuelle et délicate d'une très grande quantité de fleurs pour un volume final d'HE très modeste. Cet état de fait entraîne un coût de revient de l'HE très élevé. Ainsi, pour pallier cet inconvénient, les industries font appel à l'utilisation de l'HE de néroli bigarade synthétique.

La composition de l'HE de néroli bigarade synthétique est basée sur la même que celle retrouvée pour les fleurs d'oranger amer ; à l'exception des composants les plus lourds tels que l'indole, l'aurantiol, les acétates de phényle utilisés en plus petite quantité et un pourcentage plus important en esters et en alcools.

Les constituants de base de l'HE de néroli bigarade synthétique sont :

- l'HE de petitgrain
- le linalol
- l'acétate de linalyle
- les alcools de roses et leurs acétates
- la méthylnaphtylcétone

Les HE de bergamote, d'orange douce et parfois de citron peuvent être utilisées pour la note finale.

Des molécules comme l'acétate de benzyle, l'aldéhyde amylocinnamique, l'acétate de nonadiénol, l'eugénol et l'isoeugénol sont utilisés comme modificateurs.

La formule de l'HE de néroli bigarade synthétique renferme également des alcools en C₈, C₉, C₁₀, C₁₂ et les aldéhydes correspondants.

De petites quantités de nérolidol, hydroxycitronellal, benzoate de benzyle, anthranilate de phényléthyle, indole et terpinéol peuvent être ajoutées à la formule de fabrication.

Parfois, des traces de composés naturels comme les HE de céleri et de basilique peuvent être mentionnées.

Les résines de benjoin, de tolu, de myrrhe et de civette ainsi que des composés aromatiques semblables tels que le cinnamate de benzyle et l'acétate de phényléthyle sont considérés comme de bons fixateurs.

Le cinnamate d'éthyle est un composant habituel de l'HE de néroli bigarade synthétique utilisée pour les savons.

Parmi les constituants plus onéreux de cette HE synthétique, on peut noter la présence d'HE de néroli bigarade naturelle ou d'absolue de fleur d'oranger amer.

L'HE de néroli possède des composés en commun avec le jasmin, le narcisse (acétate de benzyle, aldéhyde amylocinnamique, linalol), acétate de linalyle, anthranilate,

jasmane) et la rose (alcool de phényléthyle, d'autres alcools de rose et leurs esters et aldéhydes en C₁₀).

L'antranilate de diméthyle et l'acide phénylacétique ont été utilisés comme composants dans l'HE de néroli bigarade synthétique. Cependant, l'acide phénylacétique a été éliminé de la formule de fabrication car il était sensibilisant. Quant à l'antranilate de diméthyle qui est une molécule irritante, sa teneur a été limitée dans le domaine de la parfumerie.

Quatre formules d'HE de néroli bigarade sont ici représentées :

Formule 1 : formule de base		
petitgrain	250 g	25,26%
aurantiol	200 g	20,20%
acétate de linalyle	125 g	12,63%
alcool phényléthylrique	100 g	10,10%
linalol	50 g	5,05%
HE d'orange douce	50 g	5,05%
aldéhyde α -amylcinnamique	50 g	5,05%
aldéhyde C ₁₀ 10%	30 g	3,03%
géraniol	25 g	2,53%
acétate de géranyle	25 g	2,53%
terpinéol	25 g	2,53%
méthylnaphtylcétone	20 g	2,02%
alcool C ₁₂	20 g	2,02%
indole	15 g	1,52%
acétate de phényléthyle	5 g	0,51%
TOTAL	990 g	100%

Formule 2		
petitgrain déterpéné	230 g	58,52%
acétate de phényléthyle	40 g	10,18%
nérol	40 g	10,18%
acétate de linalyle	20 g	5,09%
HE d'orange douce	20 g	5,09%
linalol	15 g	3,82%
formiate de géranyle	10 g	2,54%
aldéhyde C ₁₀ 10%	6 g	1,53%
méthylnaphtylcétone	6 g	1,53%
HE de céleri	6 g	1,53%
TOTAL	393 g	100%

Formule 3		
petitgrain	270 g	33,88%
acétate de linalyle	130 g	16,31%
linalol	100 g	12,55%
anthranilate de méthyle	50 g	6,27%
alcool phényléthylique	50 g	6,27%
géraniol	40 g	5,02%
acétate de géranyle	30 g	3,76%
HE de bergamote	30 g	3,76%
HE de citron	30 g	3,76%
aurantiol	20 g	2,51%
linalol	20 g	2,51%
terpinéol	20 g	2,51%
HE de basilic	5 g	0,63%
acétate de phényléthyle	2 g	0,26%
TOTAL	797 g	100%

Formule 4		
petitgrain	400 g	28,57%
anthranilate de méthyle	400 g	28,57%
acétate de linalyle	240 g	17,14%
limonène	140 g	10%
pinène	130 g	9,29%
acide phénylacétique	40 g	2,86%
acide palmitique	40 g	2,86%
acide benzoïque	10 g	0,71%
TOTAL	1400 g	100%

De plus récentes imitations de l'HE de néroli bigarade peuvent inclure des molécules comme le 3-*cis*-hexénol et ses esters, l'oxyde de néroli, le jasmonate de méthyle, les oxydes de roses, les dasmascénones, aussi bien que de nouveaux composés aromatiques mentionnés pour la plupart précédemment.

IV.1.2.3. Eau distillée de fleur d'oranger amer.

IV.1.2.3.1. Définition.

Il s'agit de l'hydrolat, c'est-à-dire de l'eau chargée des principes volatils des boutons floraux frais de l'oranger amer obtenue lors de leur distillation. Elle renferme entre 0,01 et 0,04% de linalol et peut parfois subir l'ajout d'agents antimicrobiens (Bruneton J. - Dorvault F.). Cette eau distillée de fleur d'oranger amer porte également le nom d'hydrolat de fleur d'oranger ou celui d'eau de naphé (vient de *napha* : une ancienne dénomination latine de l'oranger) (Dorvault F.).

IV.1.2.3.2. Mode d'obtention.

L'eau de fleur d'oranger est obtenue par hydrodistillation des fleurs. L'hydrolat est ensuite récupéré après décantation dans un essencier ou un vase florentin (plus dense que l'HE, il va se retrouver dans la phase inférieure de l'essencier) (Weil P.).

IV.1.2.3.3. Différentes catégories d'eau de fleur d'oranger.

Elles sont classées en fonction du volume d'eau utilisé lors de l'hydrodistillation de la matière végétale. Ainsi, il est possible de distinguer :

- L'eau quadruple (= « eau kilo pour kilo ») : elle est obtenue en recueillant 1 kg d'eau distillée pour 1 kg de boutons floraux traités. On l'appelle également « eau kilogramme-kilogramme ».
- L'eau triple : elle s'obtient en récupérant 1,5 kg d'hydrolat pour 1 kg de fleurs.
- L'eau double : elle est obtenue en retirant 2 kg d'eau distillée pour 1 kg de matière végétale.
- L'eau simple : il s'agit d'une eau double pour laquelle il a été rajouté son poids en eau.
- L'eau deux kilogrammes : elle s'obtient en recueillant 1 kg d'hydrolat pour 2 kg de fleurs traitées. Il s'agit de l'eau distillée de fleur d'oranger amer la plus concentrée.

Celle que l'on utilise en pharmacie est l'eau quadruple.

IV.1.2.3.4. Caractéristiques de l'eau distillée de fleur d'oranger.

- o Caractères organoleptiques.

Liquide incolore et limpide, cette eau distillée possède une odeur suave. Le mélange à volumes égaux d'eau de fleur d'oranger et d'alcool à 95° doit donner une fluorescence violette (Dorvault F.).

- o Caractéristiques physico-chimiques (Pharmacopée française 8^{ème} édition).

Densité à 15°C :	0,945-0,968
Pouvoir rotatoire :	+1°46' à +2°30'
Indice de saponification :	49 à 100
Teneur en anthranilate de méthyle :	11,6% à 16%

IV.1.2.3.5. Essais.

Le mélange d'eau de fleur d'oranger avec du nitroprussiate de soude, de l'hydroxyde de sodium, de l'acide acétique cristallisable aboutit en quinze secondes à l'apparition d'une coloration verte éphémère. Avant qu'elle ne disparaisse, l'ajout d'une solution de sulfate de zinc à 10% entraîne la formation d'une laque violet-rouge. Cette

laque permet de différencier l'eau de fleur d'oranger de l'eau de brouts (qui ne donne pas de laque) et de l'antranilate de méthyle (qui donne une laque verte) (Giraud N.).

Autre essai chimique : il s'agit également d'une réaction colorée en présence du réactif sulfocarbazolique (0,15g de carbazol dissous extemporanément dans 100 ml d'acide sulfurique exempt de traces de composés nitrés). Ce réactif jaunâtre et légèrement fluorescent (3 ml) forme avec l'eau de fleur d'oranger (4 ml ajoutés goutte à goutte) un précipité rose chair (Dorvault F.).

IV.1.2.3.6. Qualité des eaux de fleur d'oranger.

La qualité de l'eau est jugée sur ses caractères organoleptiques mais également par un test chimique en présence d'éther. L'extrait éthéré obtenu, si l'eau de fleur d'oranger est de bonne qualité, doit être compris entre 0,025 et 0,035%. Cet extrait doit renfermer 0,005% d'acide acétique et de 0,02 à 0,05% d'antranilate de méthyle (Giraud N.).

Afin de satisfaire aux normes de qualité pour l'eau distillée de fleur d'oranger, les producteurs doivent traiter 1 kg de fleurs d'oranger amer avec 800 g d'eau pour obtenir 700 g d'eau de fleur d'oranger. Elle est appelée eau 70% (Weil P.).

Cette eau distillée doit contenir au minimum 0,030g d'HE de néroli bigarade pour 100 ml (Dorvault F.).

IV.1.2.3.7. Adulteration des eaux de fleur d'oranger.

Elles peuvent parfois être falsifiées par les eaux de brouts (Dorvault F.). Mais le plus souvent, ce sont des composés chimiques de synthèse tels que l'antranilate de méthyle, l'indole, l'alcool phényléthylique qui servent à leur adulteration (Giraud N.).

IV.1.2.3.8. Conservation.

L'eau distillée de fleur d'oranger amer doit être conservée dans des récipients en verre ou en cuivre étamé vierges de toute souillure et à basse température. Pour une meilleure conservation la stérilisation est parfois conseillée (Giraud N.).

Il est à noter que la fluorescence de l'eau de fleur d'oranger due à la présence de l'antranilate de méthyle et de l'indole diminue progressivement au cours du temps, du fait de la rapide disparition de l'indole après la distillation.

De même la teneur en HE de néroli bigarade contenue dans l'eau distillée tend à diminuer au fil de la conservation avec une perte importante au cours des six mois suivant la distillation.

En une année, l'eau de fleur d'oranger peut perdre plus de 25% de sa teneur en HE.

Son arôme peut être entièrement annihilé par le développement de moisissures et de bactéries (Giraud N.).

IV.1.2.3.9. Composition chimique.

Comme l'eau de fleur d'oranger amer est en réalité une partie de l'HE de néroli bigarade (un tiers) qui s'est dissoute dans l'eau de distillation au cours de l'entraînement à la vapeur, elle possèdera les mêmes constituants chimiques que l'HE de néroli mais dans des proportions variables.

En effet, les composés les plus solubles sont retrouvés en quantité plus importante dans l'eau de fleur d'oranger par rapport aux composés moins solubles tels que les mono- et sesquiterpènes et les esters présents en quantité moindre (Giraud N.).

Ainsi, l'eau distillée d'oranger est riche en alcool phényléthylique et en anthranilate de méthyle (Anonis D.P.).

Les différents groupes chimiques constituant l'eau de fleur d'oranger sont répartis comme suit :

- Hydrocarbures monoterpéniques	2%
- Composés monoterpéniques oxygénés	80%
- Composés sesquiterpéniques oxygénés	3%
- Composés divers	15%

IV.1.2.4. Absolue des eaux de fleur d'oranger.

IV.1.2.4.1. Définition - mode d'obtention.

Nous avons vu précédemment (partie III.1.6.2.) que l'absolue des eaux de fleur d'oranger était un terme impropre pour désigner un produit obtenu après traitement de l'eau distillée de fleur d'oranger par l'hexane puis lavage à l'alcool.

Le rendement obtenu pour cette absolue des eaux de fleur d'oranger varie de 0,025 à 0,030% (Weil P.).

IV.1.2.4.2. Caractéristiques de l'absolue des eaux de fleur d'oranger.

Elle se présente sous la forme d'un liquide jaune brun à fort pouvoir odoriférant (Weil P.).

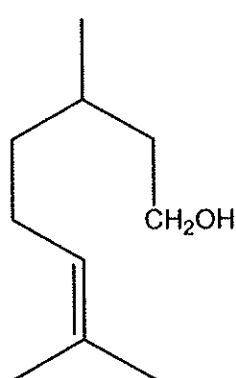
IV.1.2.4.3. Composition chimique.

Elle est quasi identique qualitativement à celle de l'HE de néroli bigarade. Seule la concentration des différents composés chimiques va varier.

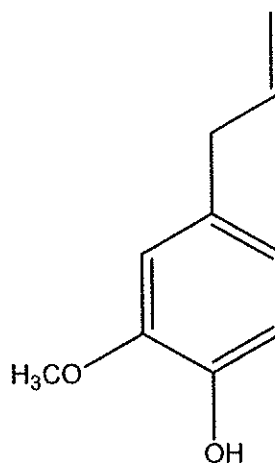
• En 1981, deux études ont été menées sur la composition chimique de l'absolue des eaux de fleur d'oranger. Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous (Lawrence B.M., 1997) :

Composition chimique de l'absolue des eaux de fleur d'oranger (%)	Etude de Buccellato et al.	Etude de Prager et Miskiewicz
Hydrocarbures monoterpéniques	1,8	1,2
limonène + (Z)- β -ocimène	0,5	0,7 (limonène seul)
(E)- β -ocimène	0,2	-
β -pinène	1,1	0,5
Composés monoterpéniques oxygénés	73,1	75,6
acétate de géranyle	0,5	0,7
acétate de linalyle	-	1
acétate de néryle	0,5	0,4
citronellol	0,2	-
géraniol	6,4	6,1
linalol	44,2	48
nérol	2,8	2,4
terpinén-4-ol + (β -caryophyllène)	-	1
α -terpinéol	18,5	16
Composés sesquiterpéniques oxygénés	2,2	1,7
farnésol	0,5	0,9
nérolidol	1,7	0,8
Composés divers	6,6	15,8
alcool 2-phényléthylique	1,9	2,1
anthranilate de méthyle	4,1	5,8
cyanide de benzyle = phénylacétonitrile	-	2,5
eugénol	0,5	-
indole	0,1	1,3
oxyde de <i>cis</i> -linalol	-	1,6
oxyde de <i>trans</i> -linalol	-	2,5

Tableau 5 : comparaison de la composition chimique de 2 absolues des eaux de fleur d'oranger.



citronellol



eugénol

La comparaison des deux études menées en 1981 sur la composition chimique de plusieurs absolues des eaux de fleur d'oranger montre des résultats très proches qualitativement et quantitativement.

Nous retrouvons une répartition par groupe chimique semblable à celle de l'eau distillée de fleur d'oranger.

Dans les deux analyses ci-dessus, nous observons une nette prédominance des composés les plus solubles (composés oxygénés) comparativement aux hydrocarbures avec une molécule nettement majoritaire dans les deux études : le linalol (44,2% et 48%).

D'après la répartition des différents groupes chimiques constituant l'absolue des eaux de fleur d'oranger, la composition chimique quantitative de cette dernière est très proche de celle de l'eau distillée de fleur d'oranger. D'ailleurs, cette absolue représente, sous une forme concentrée et pure, tous les principes odoriférants de l'eau de fleur d'oranger. Lorsque nous ajoutons une quantité suffisante d'eau distillée à l'absolue, il est possible de reconstituer un produit se rapprochant très fortement de l'eau de fleur d'oranger (Weil P.).

- En 1993, une étude menée par Rémy et ses collaborateurs permet de mettre en évidence des variations dans la composition chimique de deux absolues des eaux de fleur d'oranger obtenues à partir de deux eaux distillées de fraîcheur différente : l'une était fraîche, l'autre avait été stockée durant un mois.

Voici réunies dans le tableau ci-dessous, les compositions chimiques de ces deux absolues (Lawrence B.M., 1997) :

Composés	« absolue fraîche » (%)	« absolue stockée » (%)
acétate de géranyle	0,70	0,13
acétate de linalyle	0,18	0,05
acétate de néryle	0,33	0,07
alcool 2-phényléthylque	2,54	0,57
anthranilate de méthyle	2,97	4,30
farnésol	1,00	0,06
géraniol	8,25	0,11
indole	1,50	1,40
linalol	47,8	27,00
méthylhepténone	0,32	21,00
nérol	2,86	0,97
nérolidol	0,70	0,23
oxydes de linalol	5,10	6,00
α -terpinéol	19,8	25,00

Tableau 6 : comparaison de la composition chimique de 2 absolues des eaux de fleur d'oranger, l'une fraîche, l'autre stockée.

Les résultats mettent en évidence l'augmentation de quatre constituants chimiques après stockage :

- l'anthranilate de méthyle
- le méthylhepténone
- les oxydes de linalol
- l' α -terpinéol

A l'inverse, on note une diminution conséquente de la teneur en linalol avec une perte de 43,5% lors du stockage. Pour l'absolue des eaux de fleur d'oranger, le stockage de l'eau distillée entraîne les mêmes conséquences que le stockage de l'HE de néroli bigarade. En effet, corrélativement lorsque la teneur en linalol décroît celle en oxydes de linalol s'accroît lors du stockage (Lawrence B.M., 1997).

Une ancienne étude a été effectuée sur deux absolues des eaux de fleur d'oranger provenant de deux eaux distillées différentes : l'une était une eau « deux kilogrammes », l'autre était une eau quadruple.

Les résultats ont montré des variations quantitatives de la composition chimique de ces deux absolues (Weil P.).

IV.1.2.5. Absolue de fleur d'oranger.

IV.1.2.5.1. Définition d'une absolue.

Il s'agit d'un produit ayant une odeur caractéristique (dans le cas de l'absolue de fleur d'oranger, sa senteur se rapproche assez fidèlement de celle de la fleur d'oranger amer (Weil P.)) obtenu à partir d'une concrète (en ce qui concerne l'absolue de fleur d'oranger) par extraction à l'éthanol à température ambiante (Bruneton J.).

IV.1.2.5.2. Mode d'obtention.

On procède à l'extraction en continu des fleurs d'oranger amer avec un solvant approprié (hydrocarbures, éthers, cétones) afin d'obtenir une concrète de fleur d'oranger (le rendement est proche de 0,2%) (Boelens M.H., et al.).

Celle-ci sera ensuite épuisée par l'éthanol à température ambiante. Le produit sera alors décanté, filtré puis refroidi (glaçage) et à nouveau filtré avant d'être concentré sous pression ambiante puis sous vide léger.

Trois extractions successives sont pratiquées avec 3, 2 puis 1 partie d'éthanol sous agitation. La filtration du produit glacé se fait sur filtre Büchner refroidi, sur papier spongieux épais avec adjuvant (Richard H., et al.).

IV.1.2.5.3. Propriétés physico-chimiques.

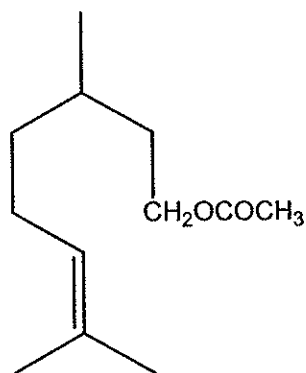
Il n'existe ni de constantes, ni de critères physico-chimiques standards concernant l'absolue de fleur d'oranger de par la variabilité de ses propriétés en fonction du mode d'extraction, du solvant utilisé, du procédé de purification et de critères écologiques (Weil P.).

IV.1.2.5.4. Composition chimique.

- En 1981, deux analyses concernant la composition chimique de l'absolue de fleur d'oranger donnèrent les résultats suivants (Lawrence B.M., 1997) :

Composition chimique de l'absolue de fleur d'oranger (%)	Etude menée par Buccellato et al.	Etude menée par Prazer et Miskiewicz
Hydrocarbures monoterpéniques	6,2	4,1
limonène + (Z)- β -ocimène	5,1	2 (limonène seul)
myrcène	0,1	0,2
(E)- β -ocimène	0,6	1
α -pinène	Traces	-
β -pinène	0,4	0,9
Composés monoterpéniques oxygénés	55,6	65,7
acétate de citronellyle	0,1	-
acétate de géranyle	0,6	1
acétate de linalyle	16,8	18
acétate de néryle	0,8	0,5
citronellol	0,5	-
géraniol	1,5	1,1
linalol	32	42
nérol	0,9	0,6
terpinén-4-ol + (β -caryophyllène)	-	0,4
α -terpinéol	2,4	2,1
Composés sesquiterpéniques oxygénés	15,3	15,5
farnésol	7,7	8,7
nérolidol	7,6	6,8
Composés divers	8,8	8,9
alcool 2-phényléthylque	4,5	0,9
anthranilate de méthyle	3	2,8
cyanide de benzyle	-	0,7
eugénol	0,3	-
indole	1	4,5

Tableau 7 : comparaison de la composition chimique de 2 absolues de fleur d'oranger.



Acétate de citronellyle

Les résultats obtenus lors de ces deux études sont très proches quantitativement et qualitativement. Ici aussi, nous observons une prédominance des composés les plus solubles, et le composé majoritaire est le linalol dans les deux analyses proposées (en gras dans le tableau).

Les valeurs répertoriées dans le tableau ci-dessus obéissent de manière globale à la répartition théorique proposée pour les différents groupes chimiques de l'absolue de fleur d'oranger.

Cette répartition théorique est la suivante :

- Hydrocarbures monoterpéniques	7%	
- Composés monoterpéniques oxygénés	60%	
- Hydrocarbures sesquiterpéniques	1%	
- Composés sesquiterpéniques oxygénés	15%	
- Composés aromatiques et autres	18%	(Boelens M.H., et al.)

• En 1982, Kaiser et Lamparsky étudièrent les constituants azotés contenus dans l'absolue de fleur d'oranger. En utilisant une combinaison de techniques analytiques, ils identifièrent les composés suivants (Lawrence B.M., 1997) :

- 2-acétylpyridine
- anthranilate de N-acétylméthyle 0,03%
- anthranilate d'éthyle (traces)
- anthranilate de N-formylméthyle (traces)
- anthranilate de méthyle 6,5%
- anthranilate de N-méthylméthyle
- décanaldoxime
- décylnitrile
- 2-éthylméthylpyridine
- (6E)-farnésal oxime
- géranialdoxime
- géranylacétone oxime
- indole 5%
- méthylhepténone isoxazoline
- méthylhepténone oxime
- 2-méthylquinoline
- 6-méthylquinoline
- néraldoxime
- nonanaldoxime
- nonylnitrile
- phénylacétaldoxime 2,0%
- phénylacétonitrile 1,5% (=cyanide de benzyle)
- 2-phénylnitroéthane 0,4%
- quinoline
- undécanaldoxime
- undécylnitrile

D'après Kaiser, quatre de ces composés à l'odeur puissante et persistante (phénylacétaldoxime, anthranilate de méthyle, indole, 2-phénylnitroéthane) sont spécifiques des fleurs appartenant à un groupe de senteurs naturelles caractérisées par une « image florale blanche ».

Font partie de ce groupe des fleurs comme le jasmin, le faux-acacia, le gardénia, le chèvrefeuille mais également la fleur de l'oranger amer (Boelens M.H., et al.).

Quelques années plus tard (1986), Kaiser mentionna l'existence de deux autres composés azotés : le 2-isobutyl-4-méthylpyridine et le 2-isobutényl-4-méthylpyridine dans l'absolue de fleur d'oranger amer (Lawrence B.M., 1997).

Selon une étude de Yang et Lee en 1988, il a été fait mention de la présence de bergaptène dans l'absolue de fleur d'oranger mais à des concentrations différentes selon le pays de provenance de l'absolue :

Origine de l'absolue	Teneur en bergaptène
Egypte	2650 ppm
France	545 ppm
Algérie	680 ppm

Tableau 8 : teneur en bergaptène dans 3 absolues de fleur d'oranger d'origine différente.

Ces auteurs ont montré que la phototoxicité de l'absolue de fleur d'oranger était directement liée à la concentration en bergaptène, celle-ci étant une molécule phototoxique de la famille des furanocoumarines. De plus, ils ont identifié un autre composant, l'époxyde de bergamotine, qui s'est révélé non toxique (Lawrence B.M., 1997).

- En 1993, Toyoda et ses collaborateurs examinèrent les composés volatils de l'espace de tête de fleurs d'oranger amer provenant du Japon. Ils ont pu ainsi déterminer la composition chimique de l'absolue de fleur d'oranger.

Hydrocarbures monoterpéniques :

p-cymène
limonène
myrcène
(E) et (Z)- β -ocimène
 β -phellandrène

Composés monoterpéniques oxygénés :

acétate de linalyle
géraniol
linalol
nérol
oxydes de *cis*- et *trans*-linalol
 α -terpinéol

Hydrocarbures sesquiterpéniques :

β -caryophyllène

Composés sesquiterpéniques oxygénés :

nérolidol

Composés divers :

Alcool-2-phényléthylique

anthranilate de méthyle

benzaldéhyde

phénylacétonitrile (=cyanide de benzyle)

indole

• Toujours en 1993, Surburg et ses associés détectèrent la présence de nouveaux composés hétérocycliques azotés dans l'absolue de fleur d'oranger :

- 2-éthyl-5-phénylpyridine	0,001%
- 4-éthyl-3-phénylpyridine	0,0002%
- 2-méthyl-5-phénylpyridine	0,001%
- 4-méthyl-3-phénylpyridine	0,001%
- 2-phényl-2-propylpyridine	0,01%
- 3-phényl-4-propylpyridine	0,0005%
- 3-phénylquinoléine	0,01% (Boelens M.H., et al.)

Conclusion :

Le tableau ci-dessous récapitule la composition chimique des différents produits obtenus après traitement des fleurs d'oranger amer :

HE de néroli	« Headspace » des fleurs d'oranger amer	Absolue des eaux de fleur d'oranger	Absolue de fleur d'oranger
camphène 0,05%-0,08%	0,08%	-	-
p-cymène 0,01%-0,05%	-	-	-
limonène 0,01%-0,05%	45,90%	0,5%*-0,7%*	5,1%*-2%*
myrcène 1,40%-3,09%	0,96	-	0,1%-0,2%
(E)-β-ocimène 5,60%-7%	2,02%	0,2%-	0,6%-1%
(Z)-β-ocimène 0,10%-0,43%	-	-	-
β-phellandrène 3,33%	-	-	-
α-pinène 0,75%-1,13%	-	-	traces
β-pinène 10,52%-13%	20,95%	1,1%-0,5%	0,4%-0,9%
sabinène 1,40%-2,80%	-	-	-

	α-terpinène 0,18%-0,48% γ-terpinène 0,01%-0,51% terpinolène 0,42%-0,60% α-thuyène 0,01%-0,05%	- - - 1,59%	- - - -	- - - -
Composés monoterpéniques oxygénés	- acétate de géranyle 0,70%-2,95% acétate de linalyle 0,58%-10% acétate de néryle 0,29%-1,55% acétate d'α-terpinyle 0,01%-0,30% - géranial 0,05%-0,10% géraniol 0,80%-2,28% linalol 31,37%-47,05% néral 0,01%-0,03% nérol 0,32%-0,82% terpinén-4-ol 0,31%-1,32% α-terpinéol 1,07%-3,45%	- - 16,69% - - - - - - 6,87% - - - - -	- 0,5%-0,7% -1% 0,5%-0,4% - - - 6,4%-6,1% 44,2%-48% - 2,8%-2,4% -1%* 18,5%-16%	Acétate de citronellyle 0,1%- 0,6%-1% 16,8%-18% 0,8%-0,9% - 0,5%- - 1,5%-1,1% 32%-42% - 0,9%-0,6% -0,4%* 2,4%-2,1%
Hydrocarbures sesquiterpéniques	δ-cadinène 0,01%-0,03% β-caryophyllène 0,54%-0,70% γ-élémente 0,01%-0,02% (E,E)-α-farnésène 0,05%-0,10% (E)-β-farnésène 0,05%-0,10% α-humulène 0,06%-0,15%	- 0,22% - - - -	- - - - - -	- - - - - -

Composés sesquiterpéniques oxygénés	farnésol 0,72%-1,59%	-	0,5%-0,9%	7,7%-8,7%
	nérolidol 2,15%-3,37%	-	1,7%-0,8%	7,6%-6,8%
Composés divers	acétate d'hexyle 0,01%-0,05%	-	-	-
	acétate de 2-phénéthyle 0,03%	-	-	-
	alcool 2-phényléthyle 0,06%-0,25%	-	1,9%-2,1%	4,5%-0,9%
	anthranilate de méthyle 0,10%-0,22%	-	4,1%-5,8%	3%-2,8%
	-	-	cyanide de benzyle -2,5%	-0,7%
	-	3-cyclohexényl-carbinol 0,08%	-	-
	-	-	eugénol 0,5%	0,3%-
	indole 0,10%-0,16%	-	0,1%-1,3%	1%-4,5%
	jasmonate de cis-méthyle 0,01%	-	-	-
	cis-jasmone 0,01%-0,05%	-	-	-
	oxyde de cis-linalol 0,01%-0,07%	0,04%	-1,6%	-
	oxyde de trans-linalol 0,10%-0,20%	0,04%	-2,5%	-

* ces chiffres tiennent compte de la teneur en limonène + (Z)- β -ocimène

* ces chiffres tiennent compte de la teneur en terpinèn-4-ol + β -caryophyllène

Tableau 9 : récapitulatif de la composition chimique des différents produits obtenus après traitement des fleurs d'oranger amer.

Concernant les valeurs pour l'absolue des eaux de fleur d'oranger et pour l'absolue de fleurs d'oranger, elles correspondent respectivement à celles de Buccellato et al. pour la première et à celles de Prazer et Miskiewicz pour la deuxième.

La composition chimique de l'« headspace » des fleurs d'oranger amer est celle étudiée par Ma et al. en 1988 puisque l'étude de Toyoda et al. de 1993 ne fournit aucune valeur numérique.

Si nous comparons le nombre de molécules chimiques détectées et identifiées, c'est l'HE de néroli bigarade qui en renferme le plus (41 molécules pour l'HE contre 14 molécules pour l'« headspace », 23 molécules pour l'absolue des eaux de fleur d'oranger et 24 molécules pour l'absolue de fleur d'oranger). Quant au composé chimique majoritaire, il s'agit du linalol pour l'HE et les deux absolues et du limonène pour l'« headspace » des fleurs d'oranger amer. Pour chaque produit étudié, le composé le plus important (linalol ou limonène) représente au minimum le tiers de la composition chimique quantitative.

En examinant la répartition des différents groupes chimiques pour les quatre produits étudiés ci-dessus, nous obtenons les résultats suivants :

Groupes chimiques	HE de néroli	« Headspace »	Absolue des eaux de fleur d'oranger	Absolue de fleur d'oranger
Hydrocarbures monoterpéniques	33,33%-47,11%	74,38%	1,8%-1,2%	6,2%-4,1%
Composés monoterpéniques oxygénés	35,52%-69,85%	23,56%	73,1%-75,6%	55,6%-65,7%
Hydrocarbures sesquiterpéniques	0,72%-1,08%	0,33%	-	-
Composés sesquiterpéniques oxygénés	2,87%-4,96%	-	2,2%-1,7%	15,3%-15,5%
Composés divers	0,43%-1%	0,16%	6,6%-15,8%	8,8%-8,9%

Tableau 10 : répartition des différents groupes chimiques des 4 produits précédemment étudiés.

Nous constatons que les cinq groupes chimiques sont tous représentés uniquement dans l'HE de néroli bigarade.

> Comparaison entre l'HE et l'« headspace » :

Les composés les plus volatils sont les hydrocarbures monoterpéniques ; c'est pour cela que leur teneur est plus importante dans l'« headspace » que dans l'huile essentielle.

Nous retrouvons ensuite les monoterpènes oxygénés.

Quant aux composés les moins volatils ce sont les hydrocarbures sesquiterpéniques (d'où leur faible teneur dans l'« headspace ») puis viennent ensuite les composés sesquiterpéniques oxygénés (ils sont absents de l'« headspace »).

> Comparaison entre les absolues et l'HE :

Nous retrouvons dans un premier temps les monoterpènes oxygénés qui sont les composés les plus polaires ; puis viennent les sesquiterpènes oxygénés.

Quant aux hydrocarbures sesquiterpéniques (les plus lipophiles), ils sont absents des absolues.

Puis viennent les hydrocarbures monoterpéniques (un peu moins lipophiles que les hydrocarbures sesquiterpéniques) dont la teneur est faible dans l'HE et dans les absolues.

>Comparaison des deux absolues :

Nous retrouvons plus de composés sesquiterpéniques oxygénés dans l'absolue de fleur d'oranger amer que dans l'absolue des eaux de fleur d'oranger car ces composés sont plus solubles dans les solvants organiques que dans l'eau.

Les hydrocarbures monoterpéniques sont faiblement solubles dans les solvants polaires ; d'où leur faible teneur dans les absolues.

Et enfin les hydrocarbures sesquiterpéniques sont absents des deux absolues car ils ne sont pas du tout solubles.

IV.1.3. HE des feuilles et des produits dérivés.

IV.1.3.1. HE de petitgrain bigaradier.

IV.1.3.1.1. Définition.

Il s'agit de l'HE obtenue à partir du traitement des feuilles du bigaradier, appelée ainsi afin de la différencier de l'HE de petitgrain citronnier, mandarinier ou bergamotier (Bruneton J.). Cette HE porte le nom des petits fruits immatures de l'oranger amer (les petitgrains) qui, auparavant, étaient utilisés pour l'obtention de cette HE (Boelens M.H., et al.).

Sa teneur dans les feuilles ne doit pas être inférieure à 0,3% V/M.

IV.1.3.1.2. Dénominations diverses.

Français :	Huile essentielle de petitgrain bigaradier
Anglais :	Oil of bitter orange petitgrain
Allemand :	Pomeranzenpetitgrainöl

IV.1.3.1.3. Mode d'obtention.

L'huile essentielle de petitgrain bigaradier est obtenue par distillation à la vapeur d'eau (en petite quantité) des feuilles. La vapeur utilisée est sèche, directe et générée par une chaudière à vapeur séparée.

Le rendement en HE varie entre 0,1 et 0,3%. Ces fluctuations dépendent principalement de « l'âge du végétal », c'est-à-dire que les feuilles provenant de jeunes sujets donnent en général des HE à plus haut rendement (Boelens M.H., et al.).

La distillation à la vapeur dure environ 2h30 de manière à recueillir 800 g d'eau distillée de petitgrain pour 1kg de matière végétale traitée (Giraud N.).

Pour l'extraction de l'HE, l'hydrodistillation est ici exclue. En effet, avec ce procédé d'obtention de l'HE, il y a contact direct de l'eau bouillante sur la matière

première qui entraîne l'hydrolyse de l'acétate de linalyle, composé majoritaire de l'HE. Cette méthode d'extraction dénaturerait ainsi le produit final (Giraud N.).

Un deuxième mode d'obtention de l'huile serait utilisé. Il s'agirait de l'hydrodiffusion réalisée avec de la vapeur à faible pression (inférieure à 0,1 bar). L'HE extraite de cette manière contiendrait moins de linalol mais plus d'acétate de linalyle que l'HE obtenue par distillation à la vapeur d'eau (Boelens M.H., et al.).

Nous observons ici que le mode d'obtention de l'HE influe sur sa composition chimique.

IV.1.3.1.4. Identification- Essais.

Cette huile essentielle n'étant inscrite ni à la Pharmacopée française ni à la Pharmacopée européenne, il n'existe pas de méthode d'identification, ni d'essais en vigueur pour l'HE de petitgrain bigaradier (Giraud N.). les seuls critères auxquels nous pouvons nous référer sont les caractéristiques données par l'AFNOR.

IV.1.3.1.5. Caractères organoleptiques.

Norme NFT 75-236 (AFNOR).

Aspect	L'HE de petitgrain bigaradier est un liquide mobile et limpide.
Couleur	Comme l'HE de néroli bigarade, elle est jaune pâle à jaune ambrée avec une légère fluorescence bleue.
Odeur	Elle est caractéristique, éthérée et agréable.

Remarque : certains auteurs précisent que l'HE de petitgrain bigarade exhale une odeur fraîche et florale comme celle de la bergamote et de l'eau de Cologne. Cette HE se caractérise également par une odeur et un aspect « naturel vert » (Boelens M.H., et al.). Elle possède un arôme âpre, citronné, frais et floral (Werner M.).

IV.1.3.1.6. Propriétés physico-chimiques.

Norme NF T 75-236 (AFNOR).

▪ Caractères physiques.

Densité à 20°C	0,888 - 0,898
Indice de réfraction à 20°C	1,456 - 1,472
Pouvoir rotatoire à 20°C	Compris entre -6° et +1°
Miscibilité à l'éthanol à 70% (V/V) à 20°C	Il ne doit pas être nécessaire d'utiliser plus de 1,5 à 5 volumes d'éthanol à 70% V/V pour obtenir une solution limpide avec un volume d'HE.

Remarque : cette huile essentielle est légèrement soluble dans l'eau (Merck index).

- Caractères chimiques.

Indice d'acide	≥2,0
Indice d'ester	140 - 217

IV.1.3.1.7. Conservation.

L'HE de petitgrain bigaradier doit être conservée dans des récipients étanches, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière (Merck index).

IV.1.3.1.8. Falsification.

Cette HE sert souvent à falsifier l'HE de néroli bigarade, comme nous l'avons vu précédemment.

Cependant, cette HE peut aussi subir une adultération par certaines molécules chimiques comme le linalol ou l'acétate de linalyle ou par l'HE de petitgrain Paraguay, extraite des feuilles d'un hybride de l'oranger amer et de l'oranger doux qui s'est acclimaté au Paraguay. Avec cette espèce botanique, le rendement en HE est plus élevé (0,25 à 0,50%) d'où son utilisation pour l'adultération de l'HE de petitgrain bigaradier (Giraud N.).

IV.1.3.1.9. Composition chimique.

L'HE de petitgrain bigaradier montre une composition chimique qualitative relativement proche de celle de l'HE de néroli bigarade.

- En 1991, une étude fut réalisée sur la composition chimique de l'HE de petitgrain bigaradier. Les résultats de la recherche sont donnés dans le tableau ci-dessous (Boelens M.H., et al.)

Composition chimique	Teneur (%)
Hydrocarbures monoterpéniques (14,96%)	
camphène	0,01
δ-3-carène	0,03
p-cymène	0,05
limonène	5,43
myrcène	2,60
cis-ocimène	0,84
trans-ocimène	2,44
α-phellandrène	0,01
α-pinène	0,19
β-pinène	2,53
sabinène	0,40
α-terpinène	0,06
γ-terpinène	0,06
terpinolène	0,29

α-thuyène		0,02
Composés monoterpéniques oxygénés (80,61%)		
Alcools	géraniol	3,00
	linalol	20,20
	nérol	1,00
	terpinén-4-ol	0,15
	α-terpinéol	4,00
Aldéhydes	citronellal	0,05
	géraniol	0,07
	néral	0,03
	périllaldéhyde	0,01
Esters	acétate de citronellyle	0,07
	acétate de géranyle	3,92
	acétate de linalyle	45,85
	acétate de 1,8,(9)-menthadiényle	0,01
	acétate de néryle	2,15
	acétate d'α-terpinyle	0,10
Hydrocarbures sesquiterpéniques (2,66%)		
δ-cadinène		0,07
β-caryophyllène		1,77
β-élémyène		0,03
cis-β-farnésène		0,08
trans-β-farnésène		0,46
germacrène-D		0,04
α-humulène		0,18
valencène		0,03
Composés sesquiterpéniques oxygénés (0,20%)		
Alcools	δ-cadinol	0,01
	nérolidol	0,12
Cétone	nootkatone	0,03
Oxyde	oxyde de caryophyllène	0,04
Composés divers (0,50%)		
anthranilate de méthyle		0,10
décanal		0,02
N-méthylanthranilate de méthyle		0,05
octanal		0,01
oxyde de cis-linalol		0,06
oxyde de trans-linalol		0,04
2-phényléthanol		0,20
périllène		0,01
2,2,6-triméthyl-6-vinyltétrahydropyrane		0,01

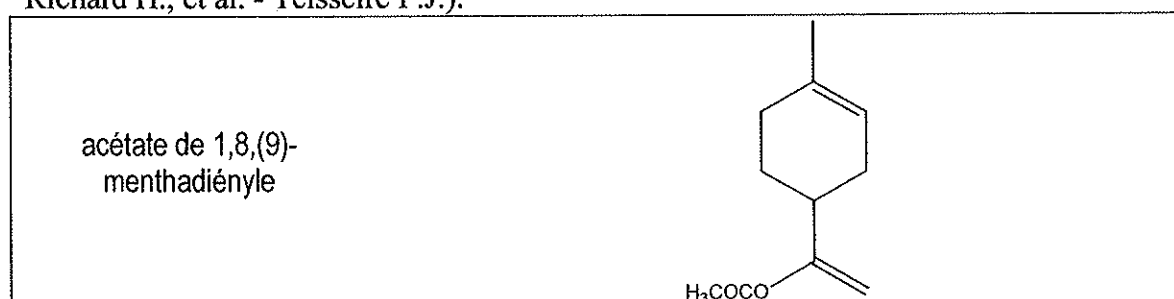
Tableau 11 : composition chimique de l'HE de petitgrain (étude de Boelens M.H., et al.).

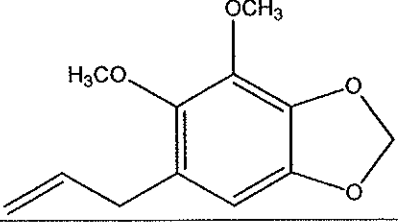
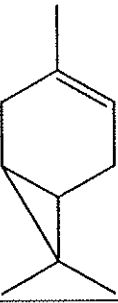
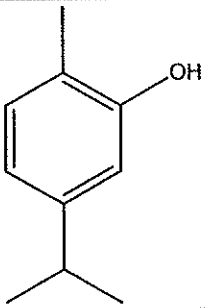
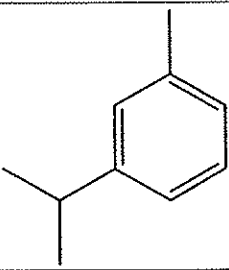
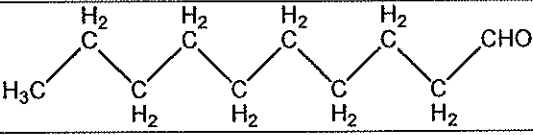
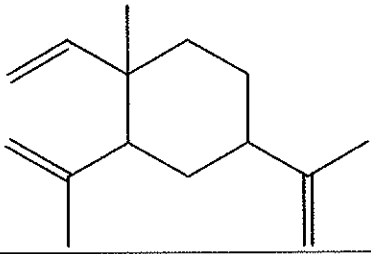
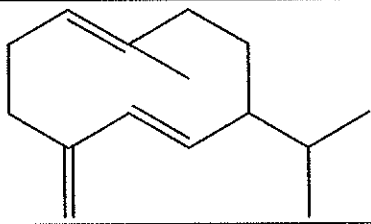
- En 1999, une autre étude fut menée par Haggag et al. sur la composition chimique de l'HE de petitgrain bigaradier. Les résultats montrent un nombre de molécules détectées et identifiées moins important que lors de l'étude de 1991 (Haggag E.G., et al.)

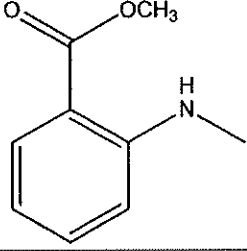
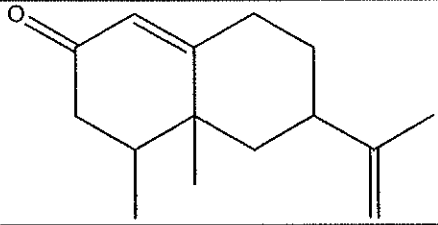
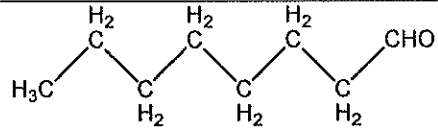
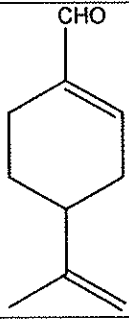
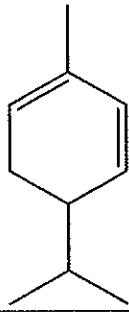
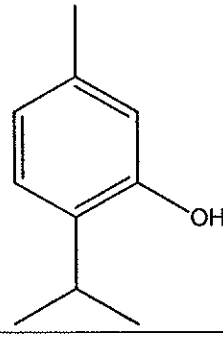
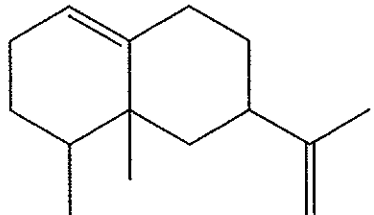
Hydrocarbures monoterpéniques (27,87%)	
δ -3-carène	2,55%
<i>m</i> -cymène	4,57%
<i>p</i> -cymène	1,50%
limonène	2,32%
myrcène	8,25%
α -pinène	1,65%
β -pinène	2,98%
γ -terpinène	4,05%
Composés monoterpéniques oxygénés (81,82%)	
Alcools monoterpéniques	
citronellol	4,65%
géraniol	3,30%
linalol	18,90%
nérol	3,30%
α -terpinéol	16,80%
Aldéhydes monoterpéniques	
citronellal	3,52%
néral	5,10%
Esters monoterpéniques	
acétate de géranyle	12,45%
acétate de néryle	12,45%
Phénols monoterpéniques	
carvacrol	0,90%
thymol	0,45%
Hydrocarbures sesquiterpéniques (9,07%)	
β -caryophyllène	4,42%
α -caryophyllène	4,65%
Composés aromatiques (5,25%)	
apiole	4,05%
eugénol	1,20%

Tableau 12 : composition chimique de l'HE de petitgrain (étude de Haggag E.G., et al.).

Formules chimiques des composés cités dans les deux études (seulement ceux dont la structure n'a pas encore été décrite) (Allinger N.L., et al. - Bruneton J. - Newman A.A. - Richard H., et al. - Teisseire P.J.).



apiolène	
δ-3-carène	
carvacrol	
m-cymène	
décanal	
β-élémane	
germacrène-D	

<p>N-méthylantranilate de méthyle</p>	
<p>nootkatone</p>	
<p>octanal</p>	
<p>périllaldéhyde</p>	
<p>α-phellandrène</p>	
<p>thymol</p>	
<p>valencène</p>	

La comparaison des deux tableaux montre une composition chimique de l'HE de petitgrain bigaradier variable quantitativement et qualitativement.

Dans l'étude de 1991, 51 molécules ont été détectées contre 23 dans l'étude de 1999. Cependant, dans cette dernière analyse, 7 molécules détectées n'étaient pas présentes en 1991. Il s'agit de :

- apiole
- carvacrol
- α -caryophyllène
- citronellol
- *m*-cymène
- eugénol
- thymol

Les molécules détectées dans la première étude sont en proportions plus importantes pour certaines d'entre elles que dans la deuxième étude comme par exemple la teneur en α -pinène qui est 8,5 fois supérieure ; de même pour l'acétate de néryle dont la teneur est 5,5 fois plus élevée.

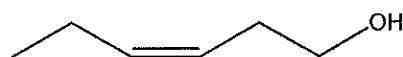
A l'inverse, l'acétate de linalyle n'a pas été détecté dans la dernière étude alors qu'il constitue le composé chimique majoritaire dans la première étude avec une teneur de 45,85% (en gras dans le tableau). Dans l'étude de 1999, le composé majoritaire est le linalol avec 18,90% (en gras dans le tableau).

Quant à la proportion des différents groupes chimiques, il existe aussi des variabilités, comme par exemple les hydrocarbures sesquiterpéniques qui étaient représentés à 9,07% dans le premier cas contre seulement 2,66% dans le deuxième cas. Cependant, les deux études s'accordent pour montrer que le groupe chimique majoritaire de l'HE de petitgrain bigaradier est constitué par les monoterpènes oxygénés.

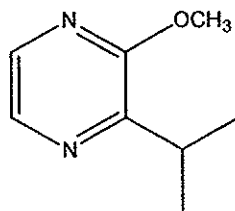
Ces différences dans la composition chimique de l'HE peuvent être dues à des facteurs de variabilité (les mêmes que ceux étudiés pour l'HE de néroli bigarade).

Quelques autres éléments chimiques ont pu être mis en évidence à l'état de traces :

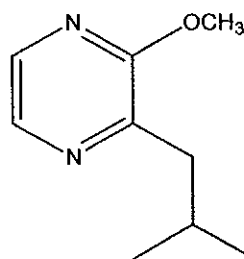
- 3-*cis* hexénol



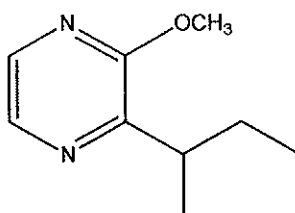
- *iso*-propyl-2-méthoxy-3-pyrazine



- *iso*-butyl-2-méthoxy-3-pyrazine



- *sec*-butyl-2-méthoxy-3-pyrazine



(Anonis D.P)

Ces trois constituants méthoxypyrazines alkylés sont présents à une concentration totale de 25 à 50 ppm. Le mélange de ces trois substances est à l'origine de « l'odeur verte » de l'HE de petitgrain bigaradier (Boelens M.H., et al.).

IV.1.3.2. Absolue des eaux de brouts.

IV.1.3.2.1. Définition - Mode d'obtention.

Ce terme impropre (« absolue ») sert à désigner le produit final obtenu après traitement de l'eau de brouts par un solvant volatil (hexane) dans un premier temps puis par l'alcool dans un deuxième temps. Cette eau de brouts provient de la distillation des feuilles à la vapeur pulsée au cours de laquelle HE de petitgrain bigaradier et eau de brouts sont mélangées.

IV.1.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques.

Il s'agit d'un liquide mobile, fortement odorant, de couleur brun-orangé.

Densité à 15°C	0,8988
Indice de réfraction	1,4682
Indice d'acide	1,12
Indice d'ester	4,9

L'absolue est soluble dans 2,5 volumes d'alcool à 60% (Weil P.).

IV.1.3.2.3. Composition chimique (Boelens M.H., et al.).

La composition chimique de l'absolue des eaux de brouts varie peu par rapport à celle de l'HE de petitgrain bigaradier étudiée en 1991. Nous retrouvons les mêmes composés chimiques à quelques produits près, notamment ceux présents en très faible quantité dans l'HE.

➤ **Hydrocarbures monoterpéniques :** **0,26%**

Nous retrouvons dans l'absolue des eaux de brouts les mêmes hydrocarbures monoterpéniques que dans l'HE de petitgrain bigaradier à quelques produits près qui ont été détectés uniquement que dans l'HE (camphène, δ -3-carène, *p*-cymène, α -phellandrène, β -pinène, sabinène, α -terpinène).

➤ **Composés monoterpéniques oxygénés :** **91,69%**

○ Alcools monoterpéniques : 90,18%

Dans l'absolue des eaux de brouts nous retrouvons les cinq mêmes alcools monoterpéniques que dans l'HE associés à quelques molécules supplémentaires :

- bornéol
- *p*-cymén-8-ol
- α -fenchol
- 1,8,(9)-menthadién-10-ol
- *cis*- β -terpinéol
- *trans*- β -terpinéol
- γ -terpinéol

○ Aldéhydes monoterpéniques : 0,04%

Nous retrouvons les mêmes molécules que dans l'HE de petit bigaradier sauf le périllaldéhyde.

○ Esters monoterpéniques : 1,29%

Ce sont les mêmes composés chimiques que dans l'HE de petitgrain excepté l'acétate de citronellyle.

○ Oxydes monoterpéniques : 0,06%

Dans l'absolue des eaux de brouts, il existe trois oxydes monoterpéniques qui ne sont pas présents dans l'HE de petitgrain :

- 1,8-cinéole
- oxyde de *cis*-limonène
- oxyde de *trans*-limonène

➤ **Hydrocarbures sesquiterpéniques :** **0,08%**

Dans l'absolue des eaux de brouts, seuls trois hydrocarbures sesquiterpéniques sont communs à ceux de l'HE de petitgrain. Il s'agit de :

- β -caryophyllène
- β -élémane
- α -humulène

➤ **Composés sesquiterpéniques oxygénés :** **0,02%**

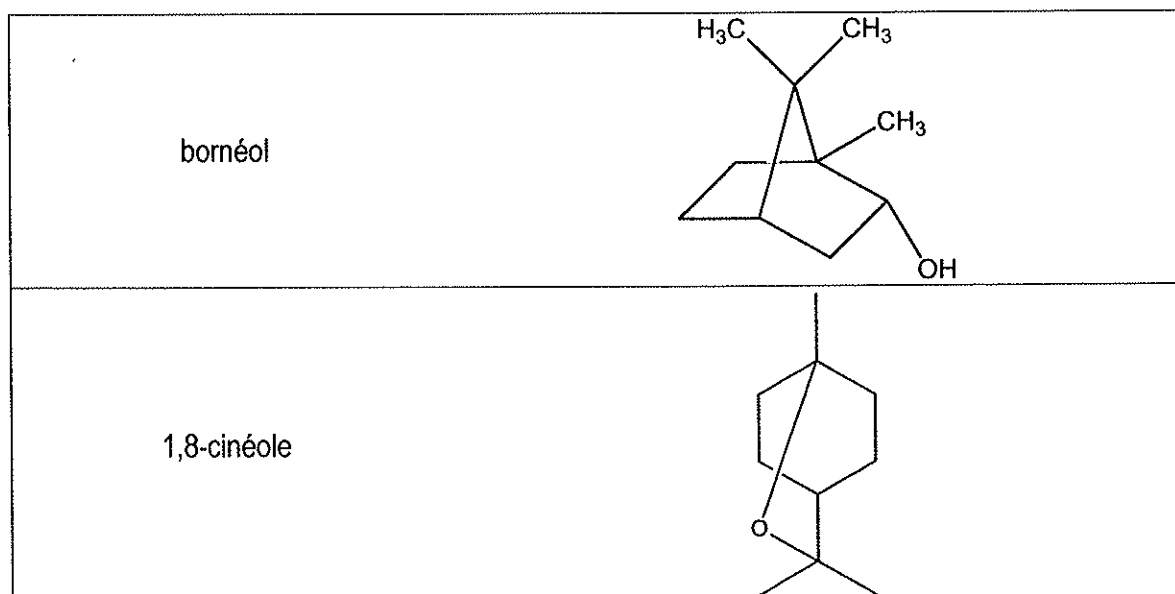
Dans les composés sesquiterpéniques oxygénés, seul le néridol est représenté.

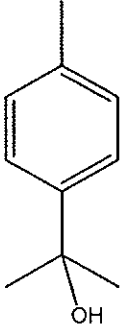
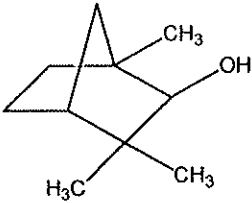
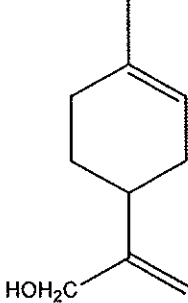
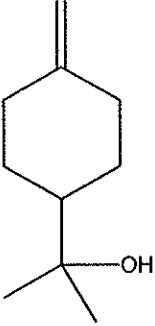
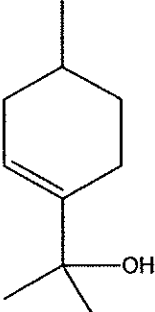
➤ **Composés divers :** **4,69%**

Dans les composés divers communs à l'HE et à l'absolue des eaux de brouts, nous retrouvons les oxydes de *cis* et *trans*-linalol, le périllène, l'octanal, le décanal et le 2,2,6-triméthyl-6-vinyltétrahydropyrane.

L'absolue des eaux de brouts renferme une très forte proportion de composés monoterpéniques oxygénés (91,53%). Ceci s'explique par le fait que ces molécules étant plus solubles que les hydrocarbures, elles se retrouveront plus facilement dans les eaux de brouts.

Formules chimiques des composés cités ci-dessus (Bruneton J. - Teisseire P.J.).



<p><i>p</i>-cymén-8-ol</p>	
<p>α-fenchol</p>	
<p>1,8,(9)-menthadién-10-ol</p>	
<p>β-terpinéol</p>	
<p>γ-terpinéol</p>	

IV.1.3.3. Absolue de brouts.

IV.1.3.3.1. Définition - Mode d'obtention.

L'absolue de brout est le produit de l'extraction des feuilles fraîches de l'oranger amer par un solvant volatil (hexane ou benzène) à froid. Au stade intermédiaire de la

fabrication de l'absolue, on obtient une concrète. Celle-ci subira plusieurs lavages à l'alcool absolu afin d'éliminer les cires et les pigments. Elle sera ensuite glacée et débarrassée de toutes traces d'alcool par distillation. Cette ultime étape aboutit à l'absolue de brouts dans un rendement d'environ 0,12%.

IV.1.3.3.2. Propriétés physico-chimiques.

Il n'existe pas de valeurs physico-chimiques standards pour l'absolue de brouts car les modes de préparation étant variables (mode d'extraction, solvant utilisé, procédé de purification), les valeurs obtenues sont souvent différentes.

IV.1.3.3.3. Composition chimique.

Il n'existe pas de composition chimique stricte pour l'absolue de brouts du fait de la variabilité des procédés d'obtention. Cependant, il est à noter que l'absolue de brouts comme l'absolue des eaux de brouts contient de fortes proportions de composés oxygénés aux dépens des hydrocarbures, beaucoup moins importants.

Cette caractéristique est à l'origine de la particularité olfactive du produit : plus riche, plus lourd, plus tenace que l'HE de petitgrain bigaradier.

Le tableau ci-dessous permet la comparaison des compositions chimiques de l'HE de petitgrain et de l'absolue des eaux de brouts.

Composition chimique	HE de petitgrain bigaradier (%)		Absolue des eaux de brouts (%)
	Etude de 1991	Etude de 1999	
Hydrocarbures monoterpéniques	14,96	27,87	0,26
camphène	0,01	-	-
δ -3-carène	0,03	2,55	-
<i>m</i> -cymène	-	4,57	-
<i>p</i> -cymène	0,05	1,50	-
limonène	5,43	2,32	0,08
myrcène	2,60	8,25	0,05
<i>cis</i> -ocimène	0,84	-	0,02
<i>trans</i> -ocimène	2,44	-	0,04
α -phellandrène	0,01	-	-
α -pinène	0,19	1,65	0,01
β -pinène	2,53	2,98	-
sabinène	0,40	-	-
α -terpinène	0,06	-	-
γ -terpinène	0,06	4,05	0,01
terpinolène	0,29	-	0,05
α -thuyène	0,02	-	-
Composés monoterpéniques oxygénés	80,61	81,82	91,59
acétate de citronellyle	0,07	-	-

acétate de géranyle	3,92	12,45	0,42
acétate de linalyle	45,85	-	0,65
acétate de 1,8,(9)-menthadiényle	0,01	-	-
acétate de néryle	2,15	12,45	0,20
acétate d' α -terpinyle	0,10	-	0,02
bornéol	-	-	0,10
carvacrol	-	0,90	-
1,8-cinéole	-	-	0,14
citronellal	0,05	3,52	0,01
citronellool	-	4,65	-
<i>p</i> -cymén-8-ol	-	-	0,05
α -fenchol	-	-	0,22
géranial	0,07	-	0,02
géraniol	3,00	3,30	3,99
linalol	20,20	18,90	39,12
1,8,(9)-menthadién-10-ol	-	-	0,11
néral	0,03	5,10	0,01
nérol	1,00	3,30	1,14
oxyde de <i>cis</i> -limonène	-	-	0,03
oxyde de <i>trans</i> -limonène	-	-	0,01
périllaldéhyde	0,01	-	-
terpinén-4-ol	0,15	-	0,68
β-terpinéol	4,00	16,80	42,54
<i>cis</i> - β -terpinéol	-	-	0,18
<i>trans</i> - β -terpinéol	-	-	0,21
γ -terpinéol	-	-	1,84
thymol	-	0,45	-
<i>Hydrocarbures sesquiterpéniques</i>	2,66	9,07	0,08
δ -cadinène	0,07	-	-
α -caryophyllène	-	4,42	-
β -caryophyllène	1,77	4,65	0,03
β -élémente	0,03	-	0,01
<i>cis</i> - β -farnésène	0,08	-	-
<i>trans</i> - β -farnésène	0,46	-	-
germacrène-D	0,04	-	-
α -humulène	0,18	-	0,04
valencène	0,03	-	-
<i>Composés sesquiterpéniques oxygénés</i>	0,20	0	0,02
δ -cadinol	0,01	-	-
nérolidol	0,12	-	0,02
nootkatone	0,03	-	-
oxyde de caryophyllène	0,04	-	-
<i>Composés divers</i>	0,50	5,25	4,69
anthranilate de méthyle	0,10	-	-
apiole	-	4,05	-
décanal	0,02	-	0,02
eugénol	-	1,20	-

N-méthylanthranilate de méthyle	0,05	-	-
octanal	0,01	-	0,02
oxyde de <i>cis</i> -linalol	0,06	-	2,99
oxyde de <i>trans</i> -linalol	0,04	-	1,61
périllène	0,01	-	0,02
2-phényléthanol	0,20	-	-
2,2,6-triméthyl-6-vinyl-tétrahydropyrane	0,01	-	0,03

Tableau 13 : comparaison des compositions chimiques de l'HE de petitgrain et de l'absolue des eaux de brouts.

Les différences fondamentales que nous pouvons observer entre les compositions chimiques de l'HE et de l'absolue sont d'une part, une teneur en composés oxygénés plus importante et d'autre part, une teneur en hydrocarbures très faible, en ce qui concerne l'absolue (en gras dans le tableau, nous pouvons visualiser le composé majoritaire de chaque produit).

Nous obtenons ainsi les mêmes résultats que pour l'absolue des eaux de fleur d'oranger et l'absolue de fleur d'oranger où les composés oxygénés étaient en quantité plus importante (Weil P.).

IV.1.4. HE des fruits et les produits dérivés.

IV.1.4.1. HE d'orange amère.

IV.1.4.1.1. Définition.

Il s'agit de l'HE extraite à partir de l'épicarpe et du mésocarpe des fruits du bigaradier (Bruneton J.). Sa teneur dans l'écorce d'orange amère ne doit pas être inférieure à 2% V/M (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

IV.1.4.1.2. Dénominations diverses.

Français :	Huile essentielle d'orange amère
Anglais :	Oil of bitter orange
Allemand :	Pomeranzenöle (AFNOR)

IV.1.4.1.3. Mode d'obtention.

Le procédé de fabrication de l'HE d'orange amère est l'expression du fruit. On agit de manière mécanique afin d'éviter la dégradation des constituants chimiques de l'HE, thermiquement fragiles.

En fonction de la technique d'expression utilisée, il existe plusieurs types de machines disponibles pour l'obtention de l'huile essentielle :

➤ Machines procédant par déformation de l'écorce.

Les résidus de l'extraction du jus (calottes d'écorce) subissent l'action de violents jets d'eau dans un couloir de plus en plus étroit. Les tissus superficiels vont se déformer, se déchirer et libérer l'huile essentielle qui sera entraînée par l'eau.

Exemples de machines :

- Machines sfumatrices Avena : le couloir est délimité par un tambour cannelé tournant à l'intérieur d'un tambour fixe.
- Machines sfumatrices spéciales Indelicato : une chaîne sans fin comprime les calottes contre une paroi fixe cannelée.

Ces machines traitent l'écorce séparée du fruit. Selon le type de sfumatrice, il est possible d'exploiter quotidiennement l'écorce de 100000 fruits.

➤ Machines procédant par pression.

- Pipkin Moll

Deux cylindres cannelés tournent en sens opposés et possèdent entre eux un espace suffisant afin que la pression exercée fasse éclater les cellules à HE sans pour autant broyer les tissus de l'écorce.

- Screw Press

C'est une presse à vis continue qui entraîne et force les débris d'écorce à l'intérieur d'un cône perforé. Un jet d'eau véhicule l'HE à travers ces perforations.

- FMC in line

C'est la machine par pression la plus moderne et la plus répandue. Elle traite les fruits entiers qu'elle presse grâce à des doigts métalliques. Un jet d'eau entraîne l'HE vers l'extérieur alors que le jus de fruits est aspiré par une canule perforée, enfoncée dans le centre.

➤ Machines procédant par abrasion.

Le fruit entier est traité en râpant la partie superficielle de l'écorce par frottement de l'orange amère sur une surface abrasive.

Exemples de machines :

- Pelatrice Avena

Le fruit est projeté contre une paroi circulaire tapissée de plaques en verre ou en inox et surmontée de pointes. Les poches sécrétrices schysolysigènes sont ainsi brisées et peuvent libérer l'HE. Un courant d'eau puissant entraînera l'HE avec les débris végétaux.

Cette machine permet le traitement de 300 à 400 kg de fruits par heure. Chaque minute, 15 à 20 litres d'eau sont pulvérisés pour pouvoir récupérer l'huile essentielle.

- Pelatrice spéciale Jafora, Fraser Brase

Les fruits passent sur des rouleaux recouverts de pointes pyramidales abrasives. Les rapures ainsi formées sont entraînées par des jets d'eau. L'HE obtenue est alors tamisée et décantée par centrifugation. L'inconvénient majeur de cette machine est de produire une HE de qualité moyenne.

- Calvillo

Cette machine permet de râper les fruits à sec. L'HE est récupérée par pression dans une presse hydraulique.

➤ Machines à aiguilles.

- Machine Indelicato

Le fruit est propulsé par secousses sur un tapis roulant muni de pointes acérées qui percent les poches à huile essentielle.

- Extracteur IFAC-Schwob

Un sillon peu profond tracé à la surface du fruit par une pointe effilée permet l'ouverture des poches schysolysigènes. Le fruit va ensuite subir un rapide mouvement de rotation autour de son axe pour faciliter l'extraction de l'HE en ajoutant l'effet de la force centrifuge.

Cet appareil permet d'obtenir une HE de qualité supérieure puisqu'il n'utilise pas d'eau mais les rendements sont plus faibles.

Les HE obtenues vont alors subir des traitements ultérieurs. Celles obtenues par un procédé nécessitant l'utilisation de l'eau doivent subir une décantation pour être séparées de la phase aqueuse. Afin d'éliminer la présence éventuelle de résidus solides dans les huiles essentielles, celles-ci seront filtrées et centrifugées.

Remarque : Il existe également des procédés anciens et manuels permettant d'obtenir l'huile essentielle d'orange amère :

- Méthode italienne (méthode à la Scorzetta)

Elle consiste à couper le fruit en deux parties égales, perpendiculairement aux quartiers d'orange. Une cuillère spéciale permet d'enlever la pulpe. Les écorces sont alors récupérées et humectées d'eau pendant au moins 4 à 5 heures pour permettre l'éclatement des poches schysolysigènes. Dans un deuxième temps, ce sont des ouvriers qui oeuvrent manuellement afin de recueillir l'huile essentielle par le procédé de l'éponge.

- Méthode espagnole (méthode à la Spugna)

Le fruit est coupé en trois parties longitudinales. Ecorce et pulpe du fruit sont séparées. Les écorces sont exprimées sur une éponge plate, grâce à laquelle on récupère l'huile essentielle par filtration. Les résidus de filtration subissent un entraînement à la vapeur d'eau et l'huile essentielle récupérée est réunie à celle obtenue par expression.

- Méthode haïtienne (procédé à l'écuelle)

Le zeste du fruit est pressé au fond d'un vase spécial contenant de nombreuses aspérités permettant l'écoulement de l'huile essentielle.

- Méthode guinéenne (procédé à la cuillère)

Les écorces sont grattées avec une cuillère ou un coquillage (Weil P. - Richard H., et al.).

Quel que soit le mode d'expression, le rendement en huile essentielle d'orange amère est de l'ordre de 0,4 à 0,5% (en excluant les procédés anciens) (Boelens M.H, et al.).

IV.1.4.1.4. Qualité des huiles essentielles d'orange amère.

Leur qualité va différer selon le mode d'extraction utilisé.

Le procédé d'expression manuel offre une huile essentielle de meilleure qualité que le procédé mécanique ; celui-ci nécessitant l'apport de grandes quantités d'eau. De ce fait, l'huile essentielle se retrouve dispersée sous forme de gouttelettes dans une phase aqueuse.

Or l'eau exerce des effets préjudiciables sur la qualité de l'huile essentielle :

- solubilisation de molécules hydrophiles souvent très odorantes.
- hydrolyse d'esters odoriférants (exemple : acétate de linalyle).
- activation de réactions biochimiques par certaines enzymes (oxydases)
- formation d'émulsions stables dont l'élimination nécessite de multiples centrifugations au cours desquelles ont lieu des réactions d'oxydation.

Pour toutes ces raisons, les procédés d'expression mécaniques offrent une huile essentielle d'orange amère de moindre qualité mais en contre-partie les rendements de travail sont plus importants (Weil P.).

IV.1.4.1.5. Conservation.

L'huile essentielle d'orange amère doit être conservée dans des récipients parfaitement hermétiques, dans un endroit frais et à l'abri de la lumière (Merck index).

IV.1.4.1.6. Caractères organoleptiques.

Norme NFT 75-334 (AFNOR).

Aspect :	L'huile essentielle d'orange amère est un liquide mobile.
Couleur :	Elle est jaune pâle à brun-jaune.
Odeur :	Elle est caractéristique du péricarpe frais : hespéridée, sèche et fraîche (Maxwell-Hudson C.).
Saveur :	L'huile essentielle d'orange amère possède une saveur amère (Merck index).

IV.1.4.1.7. Caractères physico-chimiques.

Norme NFT 75-334 (AFNOR).

- Caractères physiques.

Densité à 20°C	0,84 - 0,86
Indice de réfraction à 20°C	1,472 - 1,476
Pouvoir rotatoire à 20°C	Compris entre +88° et +98°
Miscibilité à l'éthanol à 90%(V/V) à 20°C	Pour un volume d'huile essentielle, il n'est pas nécessaire d'utiliser plus de 8 volumes d'éthanol à 90% (V/V) à 20°C pour obtenir une solution limpide.

L'huile essentielle d'orange amère est :

- très peu soluble dans l'eau.
- miscible dans les alcools absolus.
- soluble dans un volume d'acide acétique glacial (Merck index).

- Caractères chimiques.

Résidu d'évaporation	2,2% - 5%
Indice de carbonyle	2 - 11 soit 0,5% à 2,9% de constituants carbonylés exprimés en décanal.

IV.1.4.1.8. Composition chimique.

IV.1.4.1.8.1. Fraction volatile.

En analysant de manière rétrospective la composition chimique de l'huile essentielle d'orange amère, on observe une évolution dans la découverte des constituants chimiques liée à l'amélioration des techniques d'analyse. Ainsi, en 1985, Namba et ses collaborateurs mirent en évidence 10 molécules chimiques composant l'huile essentielle d'orange amère. Quatre ans plus tard, Inoma et son groupe d'étude purent découvrir 27 composants chimiques de cette huile essentielle. Enfin, en 1998, Caccioni et son équipe ont pu repérer et quantifier la présence de 36 molécules chimiques dans l'huile essentielle d'orange amère. Lors de cette dernière étude, les méthodes d'analyse furent la chromatographie gazeuse afin de déterminer les indices de rétention et d'obtenir les données quantitatives et la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour confirmer l'identité des composants (Lawrence B.M., 2000).

- Les résultats obtenus par Caccioni et al. furent les suivants :

Hydrocarbures monoterpéniques		97,26%
	camphène	traces
	δ -3-carène	0,01%
	limonène	94,27%
	myrcène	1,88%
	(E)- β -ocimène	0,23%
	(Z)- β -ocimène	traces
	α -phellandrène	0,02%
	α -pinène	0,40%
	β -pinène	0,33%
	sabinène	0,08%
	γ -terpinène	0,02%
	terpinolène	0,02%
	α -thuyène	traces
Composés monoterpéniques oxygénés		1,51%
Alcools	géraniol	0,11%
	linalol	0,78%
	nérol	0,06%
	terpinén-4-ol	0,06%
	α -terpinéol	0,26%
Aldéhydes	géranial	0,11%
	néral	0,03%
	perillaldéhyde	0,03%
Esters	acétate de néryle	0,04%
	acétate d' α -terpinyle	0,03%
Hydrocarbures sesquiterpéniques		0,13%
	β -caryophyllène	0,07%
	β -cubébène	0,05%
	β -élémente	0,01%
Composés sesquiterpéniques oxygénés		0,07%
	(E)-nérolidol	0,07%
Composés divers		0,70%
	acétate de décyle	0,02%
	acétate d'octyle	0,05%
	décanal	0,11%
	décanol	0,05%
	dodécanal	0,01%
	octanal	0,08%
	octanol	0,33%
	oxyde de <i>cis</i> -linalol	traces
	oxyde de <i>trans</i> -linalol	0,05%

Tableau 14 : composition chimique de l' HE d'orange amère (étude de Caccioni et al.).

Les résultats de cette étude nous montrent une teneur très élevée en hydrocarbures (97,39%) pour une teneur en composés oxygénés presque insignifiante (1,58%) par rapport à celle des hydrocarbures. Le constituant chimique majoritaire est le limonène, représenté à 94,27% (en gras dans le tableau).

- Une autre étude plus récente (2002) utilisant une méthode d'analyse rapide (résultats obtenus en 140 secondes) a permis de rendre compte de la composition chimique de 5 huiles essentielles provenant de différentes variétés d'oranges dont l'huile essentielle d'orange amère.

La technique de travail résultait de la combinaison de la chromatographie gazeuse « high-speed » et de la spectrométrie de masse « time-of-flight » nécessitant un ensemble de 2 colonnes mesurant 14 mètres de hauteur et de 0,18 millimètre de diamètre (chaque colonne mesurant 7 mètres).

La première colonne était constituée d'une phase polaire de trifluoropropylméthyl-polysiloxane et la deuxième colonne d'une phase apolaire avec 5% de phényldiméthyl-polysiloxane. Cet ensemble de colonnes était relié à un détecteur par ionisation de flamme.

La température de travail était au départ de 50°C et elle augmentait de 50°C toutes les minutes.

Par cette technique d'analyse, 44 molécules ont été mises en évidence ; cependant certaines d'entre elles n'ont pu être quantifiées.

En ce qui concerne l'huile essentielle d'orange amère, la composition chimique obtenue fut la suivante (Veriotti T., et al.) :

Molécules chimiques		Valeurs quantitatives (%)
Hydrocarbures monoterpéniques		98,98
	<i>p</i> -cymène	1,66
	limonène	93,42
	myrcène	2,05
	α -pinène	0,94
	β -pinène	0,91
Composés monoterpéniques oxygénés		0,43
	carvéol	-
	dihydrocarvéol	-
	linalol	0,10
Alcools	nérol	-
	périllaldéhyde	-
	α -terpinéol	-
	géranial	0,02
Aldéhydes	néral	0,04
	périllaldéhyde	-
	acétate de géranyle	0,11
Esters	acétate de linalyle	0,16


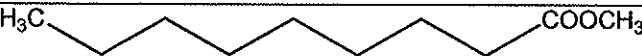
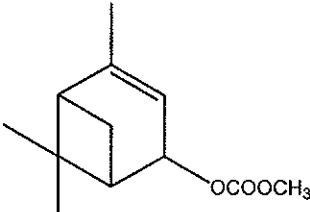
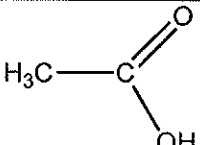
Oxyde	oxyde de limonène	-
Cétone	carvone	-
Hydrocarbures sesquiterpéniques		0,05
isomères du cadinène		-
β-caryophyllène		0,05
germacrène-D		-
α-humulène		-
verbénène		-
Composés sesquiterpéniques oxygénés		-
Alcool	nérolidol	-
Ester	acétate de verbényle	-
Composés divers		-
acétate d'octyle		-
acide acétique		-
décanal		-
nonanal		-
octanal		-

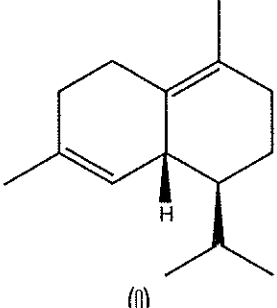
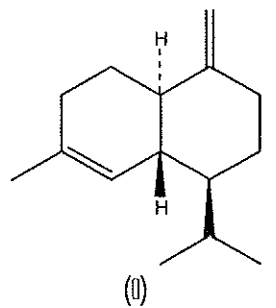
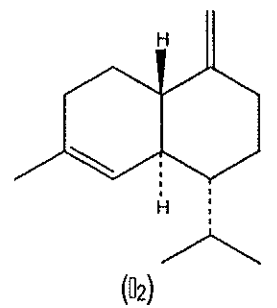
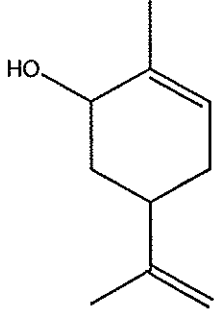
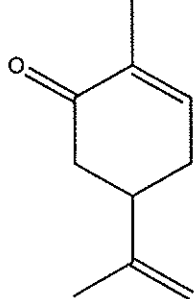
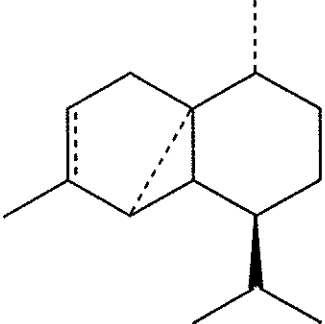
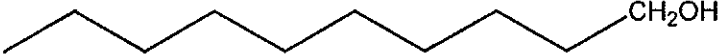
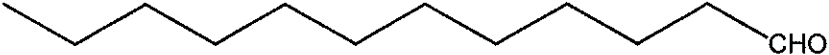
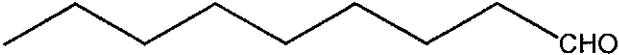
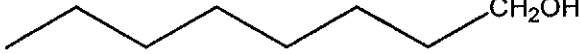
Tableau 15 : composition chimique de l' HE d'orange amère (étude de Veriotti T. et al.).

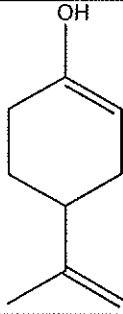
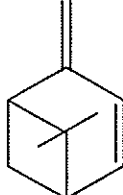
Les 11 molécules qui ont été quantifiées représentent à elles seules 99,46% de la composition chimique totale de l'HE.

Le composé majoritaire est représenté à 93,42% par le limonène (en gras dans le tableau). Les résultats de cette étude montrent une teneur en hydrocarbures de 99,03% et en composés oxygénés de 0,43%.

Formules chimiques (Bruneton J. - Newman A.A. - Teisseire P.J.).

acétate de décyle	
acétate d'octyle	
acétate de verbényle	
acide acétique	

Isomères du cadinène	 <p>(+)</p>	 <p>(-)</p>	 <p>(+)</p>
carvéol			
carvone			
cubébène			
décanol			
dodécanal			
nonanal			
octanol			

périllalcool	
verbénène	

Comme il a été vu pour l'huile essentielle de néroli bigarade, la composition chimique de l'huile essentielle d'orange amère subit des modifications selon le degré de maturité des fruits utilisés pour l'expression de l'HE.

Le tableau ci-dessous rassemble les résultats obtenus lors d'une étude menée par Bussada en 1995 sur la variabilité de la composition chimique de l'HE d'orange amère (Lawrence B.M.,2000) :

Molécules chimiques	HE provenant de fruits immatures (%)	HE provenant de fruits mûrs (%)
Hydrocarbures monoterpéniques		
camphène	traces	traces
limonène	87,66-91,85	89,65-93,01
myrcène	1,58-1,70	1,55-1,62
(E)-β-ocimène	0,17-0,36	0,14-0,26
(Z)-β-ocimène	0,01-0,03	0,01-0,02
β-phellandrène	0,27	0,25-0,26
α-pinène	0,36-0,40	0,37-0,39
β-pinène	0,15-0,42	0,23-0,51
sabinène	0,10-0,13	0,10-0,13
α-terpinène	0,01-0,02	0,01-0,02
γ-terpinène	0,02-0,03	0,04
terpinolène	0,39-0,67	0,48-0,59
Monoterpènes oxygénés		
acétate de géranyle	0,15-0,18	0,22-0,26
acétate de linalyle	0,07-0,27	0,19-0,47
acétate de néryle	0,02-0,06	0,05-0,09
géraniol	0,01-0,23	0,09-0,19
linalol	1,16-3,24	0,82-1,97
nérol	0,12-0,17	0,11-0,13
terpinén-4-ol	0,07-0,10	0,08-0,15
α-terpinéol	0,48-0,66	0,40-0,55

Hydrocarbures sesquiterpéniques		
β-caryophyllène	0,02-0,03	0,02
farnésène	0,09-0,21	0,08-0,14
Sesquiterpènes oxygénés		
farnésol	traces-0,02	traces-0,01
nérolidol	0,04-0,10	0,07-0,12
Composés issus de la dégradation des acides gras		
oxyde de <i>cis</i> -linalol	0,15	0,13-0,15
oxyde de <i>trans</i> -linalol	0,23-0,29	0,18-0,24

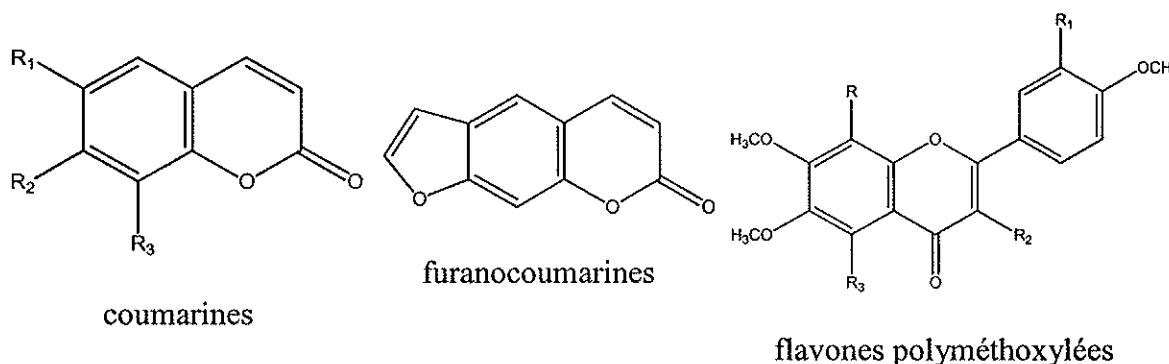
Tableau 16 : comparaison de la composition chimique de 2 HE d'orange amère, l'une provenant de fruits immatures, l'autre de fruits mûrs.

Les résultats obtenus lors de l'étude de Bussada ne mettent pas en évidence de variabilité de la composition chimique de l'HE d'orange amère en fonction du degré de maturité des fruits. Les teneurs pour chaque molécule chimique fluctuent légèrement mais restent dans le même ordre de grandeur pour chacun des composés (en gras dans le tableau figure le composé majoritaire).

IV.1.4.1.8.2. Fraction non volatile.

Lors de l'extraction de l'huile essentielle, il subsiste un résidu non volatil. Celui-ci influence considérablement les propriétés olfactives de l'HE.

Cette fraction non volatile représente approximativement 1 à 10% de la totalité de l'HE. Elle est essentiellement constituée de composés hétérocycliques oxygénés, en particulier des coumarines, des furanocoumarines et des flavones polyméthoxylés (Dugo P., et al.).



Les compositions qualitative et quantitative de la fraction non volatile de l'huile essentielle d'orange amère permettent sa caractérisation et son identification par rapport aux autres huiles essentielles de *Citrus*. Les valeurs obtenues pour l'analyse du résidu non volatil permettent aussi de contrôler la qualité de l'HE ainsi que son authenticité.

• Voici résumées dans le tableau ci-après les données concernant l'étude de la fraction non volatile de l'huile essentielle d'orange amère effectuée par Dugo et al. en 1997. La recherche a porté sur 6 huiles essentielles d'orange amère authentiques produites entre 1993 et 1995 par une industrie sicilienne.

Ces HE ont été analysées par chromatographie liquide haute pression. Les composés chimiques ont été détectés par absorption UV à une longueur d'onde de 315 nm. Le spectre UV des pics d'éluion a été émis dans des longueurs d'onde comprises entre 250 et 400 nm.

Les composés oxygénés hétérocycliques ont été isolés par chromatographie sur colonne, par chromatographie sur couche mince et par chromatographie liquide haute pression.

L'identité des composants isolés a été confirmée par résonance magnétique nucléaire et par spectrométrie de masse (Dugo P., et al.)

Pic d'éluion	Composés hétérocycliques oxygénés (teneur moyenne en mg pour 100g d'HE)	
3	osthole	171
4	bergaptène	63
5	époxybergamotine	275
7	coumarine 1 inconnue	9
8	méranzine	926
9	isoméranzine	188
10	coumarine 2 inconnue	26
11	tangéretine	110
12	3,3',4',5,6,7,8-heptaméthoxyflavone	10
13	nobilétine	64
14	tétra-O-méthylscutellaréine	14
15	coumarine 3 inconnue	45
16	hydrate d'époxybergamotine	25
17	hydrate de méranzine	34

Tableau 17 : teneur en composés hétérocycliques oxygénés dans l'huile essentielle d'orange amère.

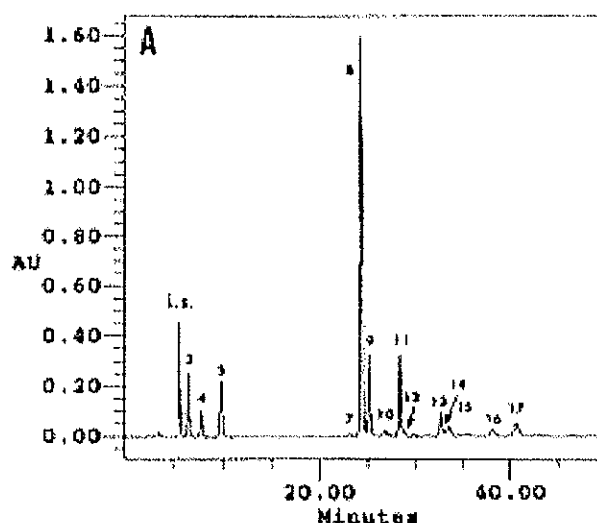


Figure 5 : chromatogramme des composés hétérocycliques oxygénés contenus dans l'HE d'orange amère.

Les résultats du tableau nous montrent que la fraction non volatile de l'huile essentielle d'orange amère contient :

➤ 4 coumarines connues :

- osthole = 8-(3-méthyl-2-oxobutyl)-7-méthoxycoumarine
- méranzine = auraptène
- isoméranzine
- hydrate de méranzine

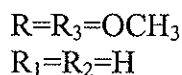
➤ 3 coumarines inconnues

➤ 3 furanocoumarines :

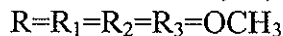
- bergaptène = 5-méthoxypsoralène
- époxybergamotine
- hydrate d'époxybergamotine

➤ 4 flavones polyméthoxylées :

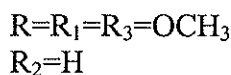
- tangéretine



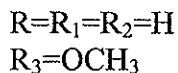
- 3, 3', 4', 5, 6, 7, 8-heptaméthoxyflavone



- nobilétine



- tétra-O-méthylscutellaréine



La méranzine constitue le composé chimique majoritaire de la fraction non volatile de l'huile essentielle d'orange amère (en gras dans le tableau) (926 mg pour 100 g d'HE soit 47,2% de l'ensemble des composés). Cette molécule appartient au groupe des coumarines et à ce titre, il est à noter que cette famille est la plus représentée quantitativement (toutes coumarines confondues : 1399 mg soit 71,4%) suivie par les furanocoumarines (363 mg soit 18,5%) et en dernier lieu nous retrouvons les flavones polyméthoxylées (198 mg soit 10,1%).

Lors de cette étude, quelques échantillons d'huiles essentielles d'orange amère, dont les résultats n'ont pu être utilisés pour calculer les valeurs moyennes du tableau ci-

dessus, ne contenaient pas de méranzine et renfermaient de l'époxybergamotone en très petite quantité. Ces anomalies de composition chimique peuvent être dues au procédé d'extraction de l'huile essentielle qui parfois prévoit un temps de contact plus long de l'HE avec un milieu acido-aqueux. Dans ces conditions, le groupement époxy entourant la méranzine et l'époxybergamotone peut conduire à la formation de l'hydrate de méranzine et de l'hydrate d'époxybergamotone qui sont solubles dans l'eau et donc perdus pour l'analyse.

Afin de confirmer cette hypothèse, un échantillon d'huile essentielle d'orange amère authentique a été mélangé à du jus d'orange ou à une solution aqueuse d'acide citrique.

Le résultat fut que la méranzine avait totalement disparue. De plus, un mélange d'hydrate de méranzine et d'isoméranzine dans du diéthyl-éther a montré, après traitement par une solution aqueuse d'acide citrique, une diminution de la quantité d'hydrate de méranzine alors que la quantité d'isoméranzine n'avait pas fluctué (Dugo P., et al.).

- Une deuxième analyse a porté sur la recherche des composés oxygénés hétérocycliques de 7 HE commerciales d'orange amère.

Le tableau ci-dessous présente les résultats de l'étude (Lawrence B.M., 2000) :

Composés oxygénés hétérocycliques	1	2	3	4	5	6	7	Tableau précédent
bergamotone	-	-	-	-	-	+	+	-
5-(géranyloxy)-7-méthoxy-coumarine	-	-	-	-	-	+	+	-
osthole	114	105	109	117	113	140	197	171
bergaptène	37	39	31	34	31	27	45	63
époxybergamotone	127	100	72	70	84	60	-	275
coumarine 1 inconnue	8	6	7	4	7	4	11	9
méranzine	401	314	122	135	133	205	-	926
isoméranzine	110	116	77	90	69	126	108	188
coumarine 2 inconnue	9	8	-	-	-	-	3	26
tangéretine	78	70	72	53	62	53	34	110
heptaméthoxyflavone	25	32	24	30	27	5	4	10
nobilétine	46	45	34	40	33	18	16	64
tétra-o-méthylscutellaréine	24	31	18	22	16	7	-	14
coumarine 3 inconnue	-	-	4	-	-	4	-	45
hydrate d'époxybergamotone	26	34	38	32	43	24	24	25
hydrate de méranzine	53	73	55	32	96	31	98	34

Tableau 18 : teneur en composés hétérocycliques oxygénés de 7 HE commerciales d'orange amère.

Une analyse comparative des deux études menées sur la fraction non volatile de l'huile essentielle d'orange amère permet de se rendre compte que les valeurs obtenues dans le tableau ci-dessus sont moins élevées (par rapport à celles attendues).

D'après les auteurs, cette différence observée au niveau des résultats serait due à une adultération des huiles par des produits ne contenant pas de fraction oxygénée hétérocyclique (à titre d'exemple, on peut noter que la teneur en méranzine est 2,3 à 7,6 fois moins importante selon les échantillons dans le tableau ci-dessus même si elle reste le composé chimique majoritaire dans tous les échantillons excepté dans le n°7 (molécule absente)).

Ces auteurs émirent l'hypothèse que les adultérants utilisés étaient peut-être des terpènes d'orange douce ou des HE d'orange douce. Quant à la présence de bergamotine et de 5-(géranyloxy)-7-méthoxy-coumarine dans les échantillons 6 et 7, elle signalerait sans doute une falsification par des HE de citron et de citron vert (Lawrence B.M, 2000).

En résumé, la détermination de la fraction non volatile de l'huile essentielle d'orange amère permet son identification ainsi que sa caractérisation par rapport aux autres huiles essentielles du genre *Citrus*. Elle permet en outre de détecter une éventuelle adultération de l'HE.

En conclusion, nous pouvons dire que l'HE d'orange amère est constituée d'une fraction volatile et d'une fraction non volatile (ce qui constitue une différence avec les HE de néroli bigarade et de petitgrain bigaradier).

- la fraction volatile.

Elle est composée d'un certain nombre de groupes chimiques dont le plus important, les hydrocarbures monoterpéniques, est représenté à plus de 95%. La molécule majoritaire de cette fraction volatile est le limonène, à plus de 90%. Quant aux composés les plus solubles (c'est-à-dire les composés oxygénés), ils sont présents en très petite quantité dans l'HE d'orange amère (ce qui la différencie des HE de néroli et de petitgrain).

- la fraction non volatile.

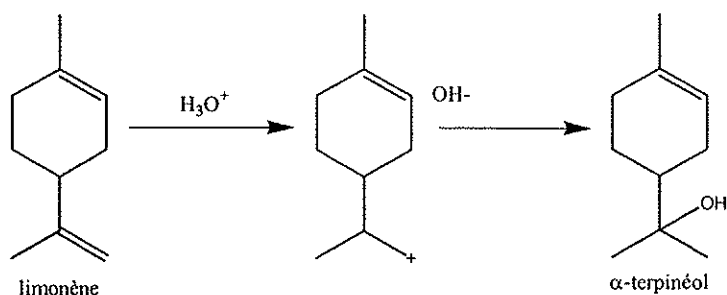
Elle représente environ 1 à 10% de la totalité de l'HE. Elle renferme surtout des composés oxygénés hétérocycliques tels que des coumarines, des furocoumarines et des flavones polyméthoxylées.

Dans cette fraction non volatile, ce sont les coumarines les plus largement représentées (70%) avec la méranzine comme constituant majoritaire à plus de 45%.

IV.1.4.2. Les huiles déterpénées.

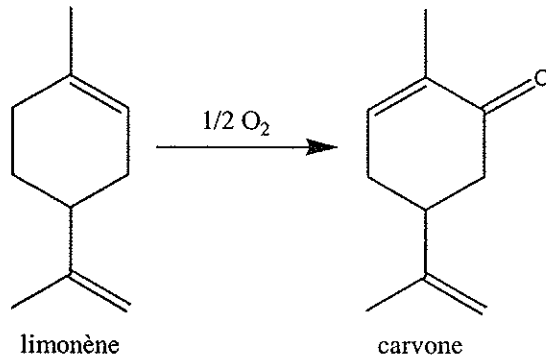
L'huile essentielle d'orange amère peut subir une déterpénation afin d'améliorer ses caractères organoleptiques et notamment son arôme pour lequel les terpènes présents en très grande quantité dans l'huile ne jouent qu'un très faible rôle, comparativement aux composés oxygénés. De plus, ces terpènes présentent ici l'inconvénient d'être partiellement insaturés et donc chimiquement instables au contact de l'air, de la lumière, de l'eau. Les réactions qui en découlent sont catalysées par la chaleur ainsi qu'en milieu acide.

• Ainsi, les réactions d'hydratation-déshydratation à pH acide dans des boissons aromatisées à l'orange par exemple transforment le limonène en α -terpinéol :

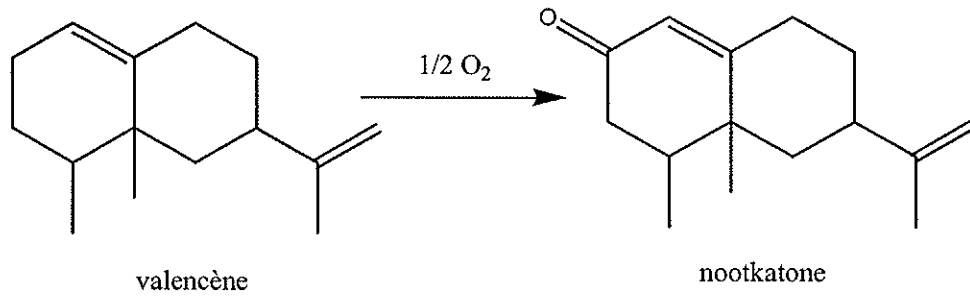


• Les réactions d'oxydation transforment :

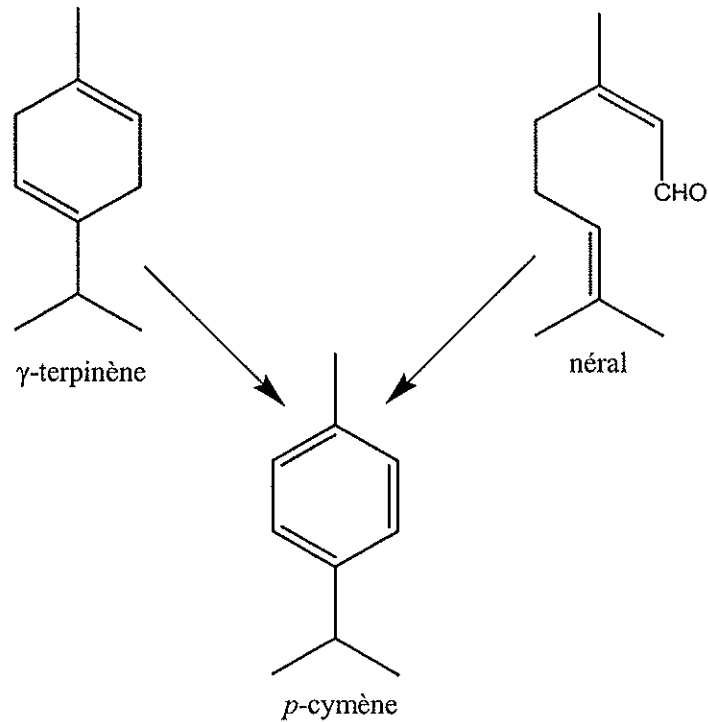
- le limonène en carvone :



- le valencène en nootkatone :



- le γ -terpinène et le néral en *p*-cymène :



Ces composés issus des réactions d'oxydation sont indésirables car ils dégradent l'arôme de la préparation dans laquelle ils sont impliqués, annihilant ainsi l'impression de fraîcheur recherchée.

Autre inconvénient majeur des hydrocarbures terpéniques : ils sont insolubles dans l'eau et dans des solvants comme l'alcool entraînant des problèmes de limpidité en solution et les rendant indésirables dans les parfums.

Pour ces raisons d'instabilité chimique et d'insolubilité relative, il convient autant que possible d'utiliser l'huile essentielle débarrassée de ses hydrocarbures terpéniques.

Il existe plusieurs techniques procédant à la déterpénation :

- La rectification.

Elle consiste en la purification de l'huile essentielle par distillation fractionnée. Elle se base sur la valeur du point d'ébullition :

⇒ 160°-180°C pour les hydrocarbures monoterpéniques.

⇒ 290°-300°C pour les hydrocarbures sesquiterpéniques.

⇒ 210°-250°C pour les composés oxygénés.

Cependant, comme les composés se dégradent aux températures élevées, il conviendra de travailler sous vide afin d'abaisser le point d'ébullition.

- Le lavage à l'alcool.

On procède à un lavage à l'alcool dilué soit sur une huile essentielle brute, soit sur une huile essentielle déjà rectifiée ; ce qui permet d'éliminer terpènes et sesquiterpènes ainsi que les colorants, cires et tocophérols.

Il existe une variante du lavage à l'alcool : la codistillation par l'éthanol ; procédé très utilisé par les fabricants d'apéritifs et de liqueurs.

- La chromatographie liquide-solide.

L'huile essentielle est introduite dans une colonne chromatographique et adsorbée. Elle subit ensuite une élution par un solvant apolaire qui entraîne sélectivement les hydrocarbures terpéniques. Les composés oxygénés (ainsi que les colorants) restés dans la colonne seront élués par un solvant polaire (acétate d'éthyle, méthanol). Le mélange est ensuite séparé par distillation sous vide.

- La séparation liquide-liquide.

On utilise un dispositif constitué d'une colonne verticale dans laquelle on injecte en haut un solvant polaire lourd (méthanol) et en bas un solvant apolaire léger (pentane). L'huile essentielle est injectée sur le côté de la colonne. Par différence de densité, le solvant apolaire remonte et dissout sélectivement les hydrocarbures terpéniques. Le mélange est alors évacué par le haut de la colonne. Le solvant polaire, quant à lui, descend, se charge des composés oxygénés et l'ensemble est récupéré au bas de la colonne.

Solvants et composés dissous sont séparés par distillation sous vide et les solvants sont recyclés.

Ce procédé fonctionne en continu.

- La séparation en phase gazeuse.

Le matériel nécessaire à sa réalisation est composé d'un appareil à gros débit avec une colonne de séparation mesurant 1,5 m de long et d'un diamètre de 400 mm. La température de travail est de 150°C et le débit d'injection est de 30 g par seconde pour une durée d'injection de 10 secondes.

Les différentes fractions injectées sont dirigées vers un condenseur individuel à l'aide de vannes appropriées.

Les fractions seront alors récupérées par un système de condensation.

Selon le procédé de déterpénation employé, il est obtenu 10 à 15% d'huile essentielle déterpénée. Celle-ci referme une plus forte proportion de composés oxygénés que l'HE non déterpénée (esters=45% - aldéhydes=15 à 20%). Cette modification de composition chimique rend l'huile essentielle déterpénée plus odorante avec une augmentation de sa solubilité dans l'alcool (propriété intéressante en parfumerie).

Les propriétés physico-chimiques de l'huile déterpénée d'orange amère sont les suivantes :

- densité à 15°C	0,908-0,892
- pouvoir rotatoire à 20°C	+10°5' à 8°10'
- pourcentage d'esters (acétate de linalyle)	47,8%
- pourcentage d'aldéhydes (citral)	21%
- solubilité dans l'alcool : 1,5 volumes d'huile déterpénée dans un volume d'éthanol à 80° (Giraud N.).	

IV.2. Constituants autres que l'HE présents dans les trois organes botaniques de l'oranger amer.

IV.2.1. Dans les fleurs.

Peu de composés, en dehors des constituants de l'HE, ont été identifiés à partir des feuilles.

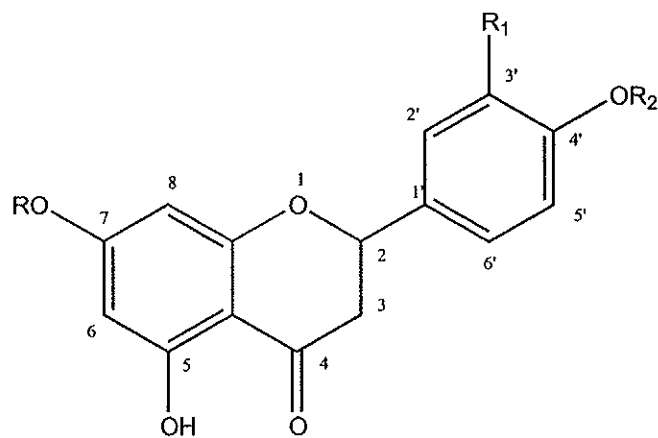
On distingue des groupes comme les flavonoïdes, les stéroïdes, les acides aminés et quelques molécules diverses (Bruneton J. - Huang S., et al. - Kawaii S., et al.).

IV.2.1.1. Hétérosides flavonoïdiques.

Les hétérosides flavonoïdiques représentés dans les fleurs de l'oranger amer sont au nombre de trois :

- le naringoside
- le néoériocitroside
- le néohespéridoside

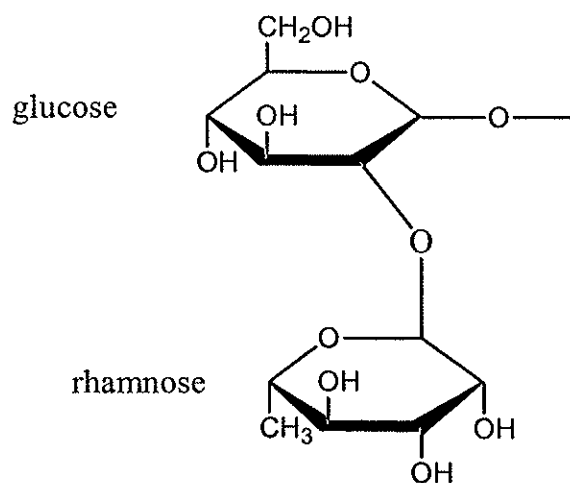
Ces trois molécules sont constituées par l'assemblage d'un ose commun : le néohespéridose et d'une génine polysubstituée ayant pour structure de base le noyau flavanone.



noyau flavanone

Hétérosides flavanoïdiques	Dénomination anglo-saxonne	génine	R ₁	R ₂	R=ose
naringoside	naringine	naringénine (=naringétol)	H	H	néohes- péridose
néoériocitroside	néoériocitrine	ériodictyol	OH	H	
néohespéridoside	néohespéridine	hespéretol	OH	CH ₃	

Le néohespéridose est un disaccharide rhamnoglucosidique de structure : O- α -L-rhamnosyl-(1 \rightarrow 2)-glucose.



néohespéridose

La drogue doit contenir au minimum 0,8% de composés flavonoïdiques (Bruneton J.).

IV.2.1.2. Acides aminés.

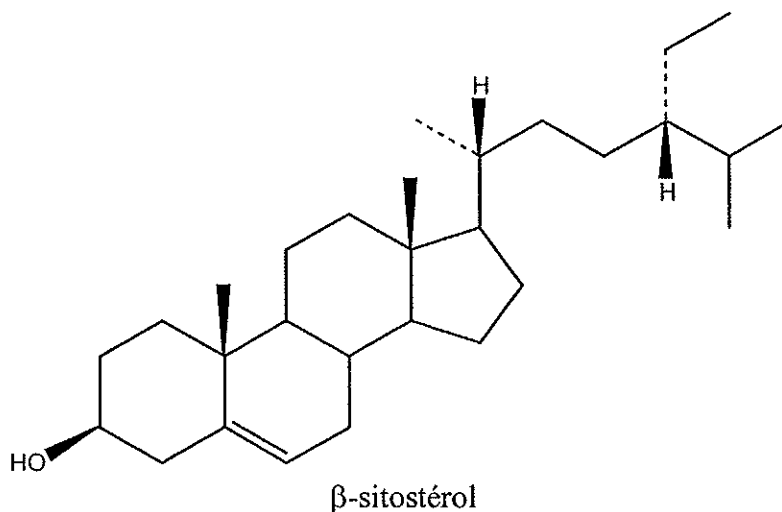
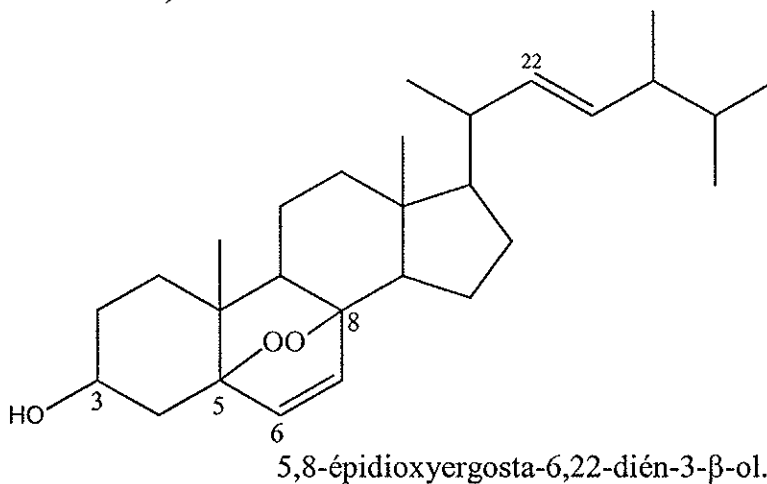
Parmi les acides aminés présents dans la fleur d'oranger amer, nous retrouvons (Huang S., et al.) :

- l'asparagine
- l'alanine
- l'isoleucine
- la tyrosine
- la valine

IV.2.1.3. Stéroïdes.

Dans le groupe des stéroïdes, seuls trois composés ont été signalés :

- le β -daucostérol
- le β -sitostérol
- le 5,8-épidioxyergosta-6,22-dièn-3- β -ol (Huang S., et al. - Klyne W.)



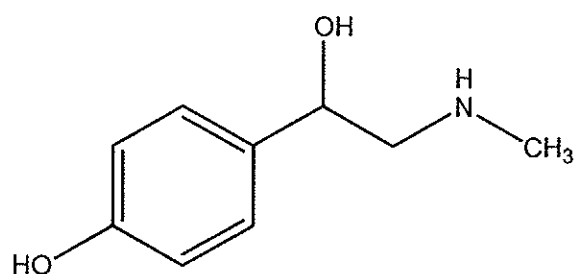
Cette molécule est dérivée du 5- α -cholestane-3- β -ol avec en position 24 la présence d'un groupement éthyle :

IV.2.1.4. Molécules diverses.

On peut citer deux molécules : la synéphrine et l'adénosine (Huang S., et al. - Merck index).

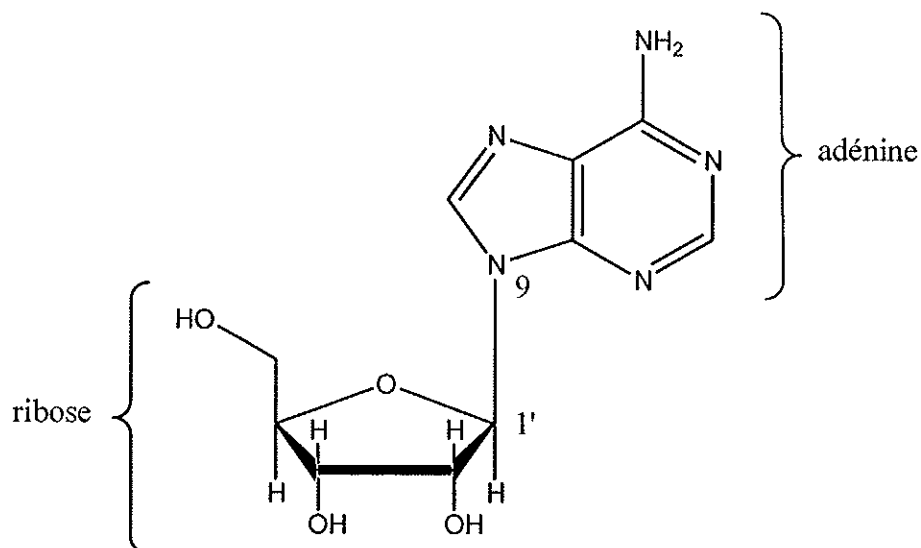
- synéphrine

Il s'agit d'un alcaloïde adrénérgique et vasopresseur dont la formule chimique est la suivante :



- adénosine

Il s'agit d'un nucléoside résultant de la liaison d'une base purique : l'adénine avec un pentose, le ribose. Il porte le nom de ribonucléoside (ou riboside). Cette liaison a lieu entre l'azote 9 et de l'adénine et le carbone 1' du ribose.



IV.2.2. Dans les feuilles.

A partir des feuilles ont été identifiés plusieurs composés appartenant au groupe des flavonoïdes, des triterpènes, des coumarines, des stéroïdes, des acides gras et des bases organiques.

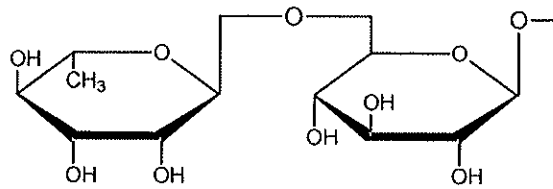
IV.2.2.1. Flavonoïdes.

Dans les feuilles de bigaradier, nous retrouvons les trois hétérosides flavonoïdes déjà présents dans les fleurs (naringine, néoériocitrine et néohespéridine) ainsi que l'hespéridine (noyau flavanone), l'apigénine et la néodiosmine (noyau flavone).

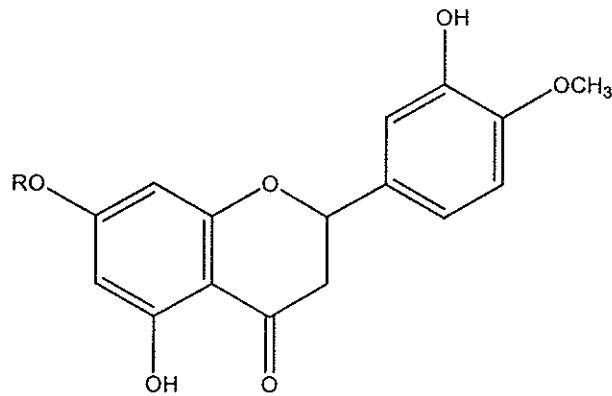
- L'hespéridine.

L'hespéridine ou l'hespéridoside est une molécule constituée de l'assemblage d'un ose, le rutinose et d'une génine, l'hespérotol. La génine est liée à son ose par son hydroxyle en C₇.

Le rutinose est un disaccharide rhamnoglucosidique de structure : O- α -L-rhamnosyl-(1 \rightarrow 6)-glucose.



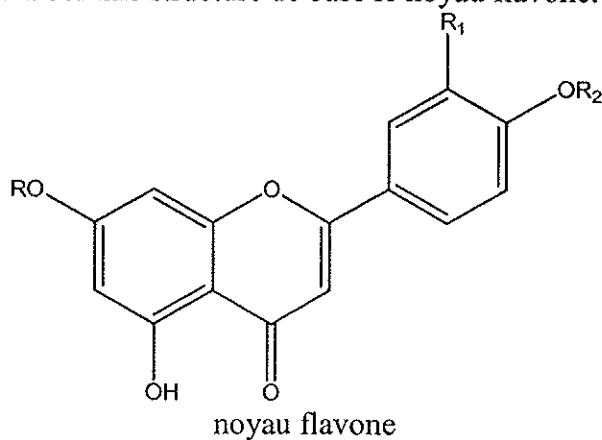
rutinose



hespéridine
(R = rutinose)

- L'apigénine et la néodiosmine.

Ces deux composés ont comme structure de base le noyau flavone.



noyau flavone

Molécules chimiques	R ₁	R ₂	R	Génine
apigénine*	H	H	H	-
néodiosmine	OH	CH ₃	néo-hesperidose	diosmétol

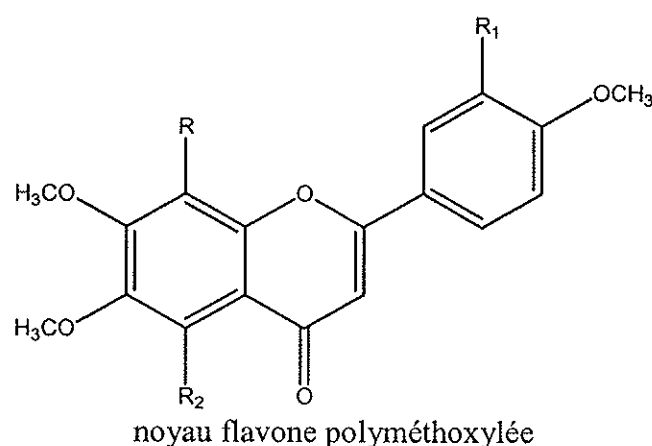
*d'après les auteurs, l'identification de cette molécule n'est pas certaine.

▪ Composés flavonoïdiques polyméthoxylés.

Quatre composés flavonoïdiques polyméthoxylés ont été retrouvés dans les feuilles du bigaradier :

- 5-déméthylnobilétine
- natsudaïdaine
- nobilétine
- tangéretine

Ces molécules ont comme structure de base le noyau flavone polyméthoxylée.

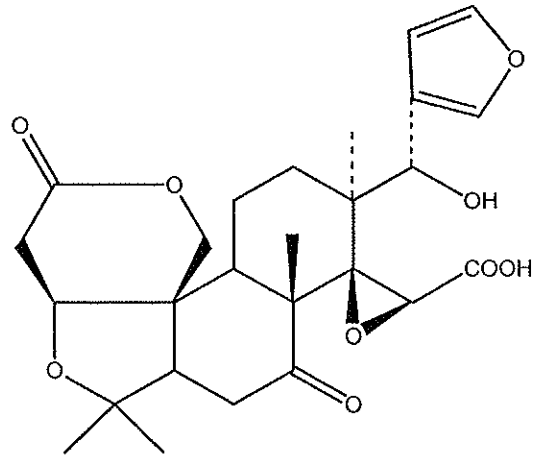


Molécules chimiques	R	R ₁	R ₂	R ₃
tangéretine	OCH ₃	H	H	OCH ₃
5-déméthylnobilétine	OCH ₃	OCH ₃	H	OH
nobilétine	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃
natsudaïdaine	OCH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃

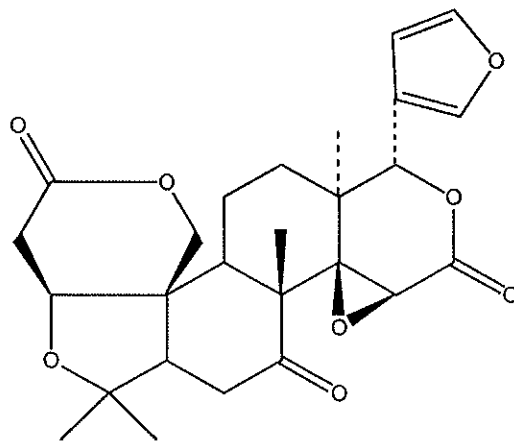
(Kawaii S., et al.)

IV.2.2.2. Composés triterpéniques amers : les limonoïdes.

Le limonoïde retrouvé dans les feuilles d'oranger amer est la limonine provenant de l'acidification et de la lactonisation de l'acide limonoïque monocarboxylique (Giraud N.).



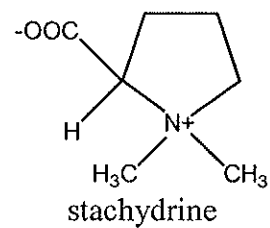
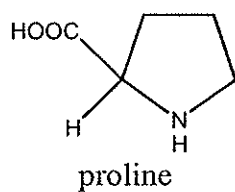
acide limonoïque (Bruneton J.)



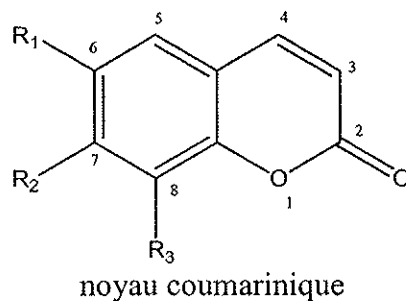
limonine (Newman A.A.)

IV.2.2.3. Bases organiques.

La stachydrine en est la représentante majeure ; cette molécule, dérivant d'un acide aminé (la proline), se présente sous la forme de cristaux incolores de saveur sucrée qui fondent rapidement à l'air. Elle est soluble dans l'eau et l'alcool (Giraud N.).



IV.2.2.4. Coumarines (Haggag E.G., et al.).

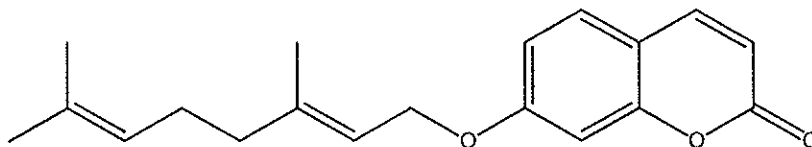


A quelques rares exceptions, toutes les coumarines sont substituées en C₇ par un groupement hydroxyle.

En 1999, lors d'une étude réalisée par Haggag et ses collaborateurs sur les feuilles de l'oranger amer et de l'oranger doux, 4 coumarines (méranzine, limettine, ombelliférone, osthole) et 2 furanocoumarines (bergaptène, bergaptole) ont été mises en évidence (Haggag E.G., et al.).

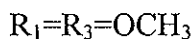
> Coumarines simples :

- auraptène (=méranzine)

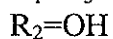
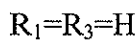


- limettine

Elle porte également le nom de citroptène.



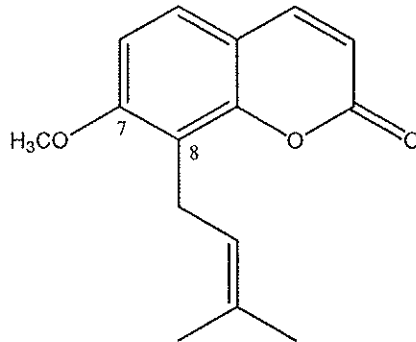
- ombelliférone



L'ombelliférone connue sous le nom de 7-hydroxycoumarine est le précurseur des coumarines 6,7-di et 6,7,8-trihydroxylées (Bruneton J.).

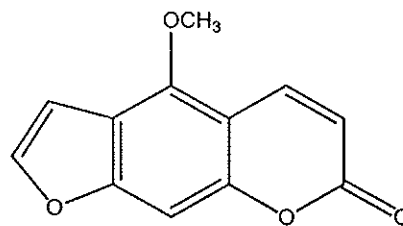
- osthole

Il s'agit de la 8-(3-méthyl-2-butényl)-7-méthoxycoumarine.



> Furanocoumarines :

Les deux qui ont été détectées furent le bergaptène (=5-méthoxypsoralène) et le bergaptole.

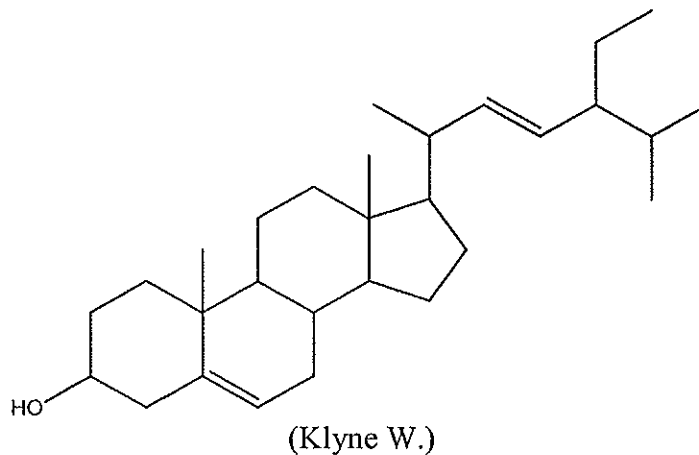


bergaptène

IV.2.2.5. Stéroïdes.

Trois stérols ont été mis en évidence lors de l'étude menée par Haggag et ses associés en 1999 (Haggag E.G., et al.).

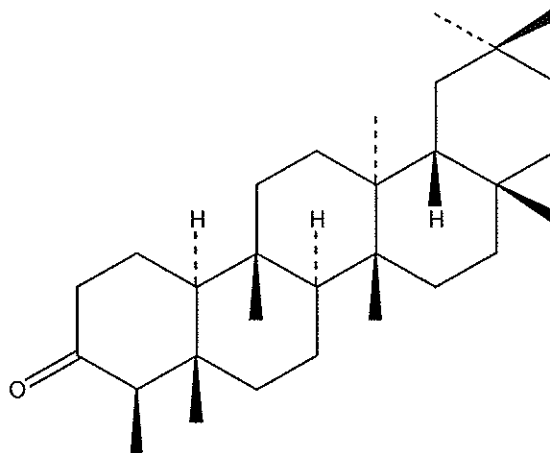
- stigmastérol



- β -sitostérol

La structure chimique a déjà été vue dans le chapitre précédant sur la composition chimique des fleurs de l'oranger amer.

- friédeline



IV.2.2.6. Acides gras.

Huit acides gras ont été isolés puis identifiés par chromatographie gazeuse lors de l'étude de Haggag en 1999 (Haggag E.G., et al. - Allinger N.L., et al.) :

acide myristique	$C_{14}H_{28}O_2$	0,3%
acide myristoléique	$C_{14}H_{26}O_2$	0,4%
acide palmitique	$C_{16}H_{32}O_2$	4,3%
acide palmitoléique	$C_{16}H_{30}O_2$	4,8%
acide stéarique	$C_{18}H_{36}O_2$	0,8%
acide oléique	$C_{18}H_{34}O_2$	10,8%
acide linoléique	$C_{18}H_{32}O_2$	12,4%
acide linoléinique	$C_{18}H_{30}O_2$	9,4%

IV.2.3. Dans les fruits.

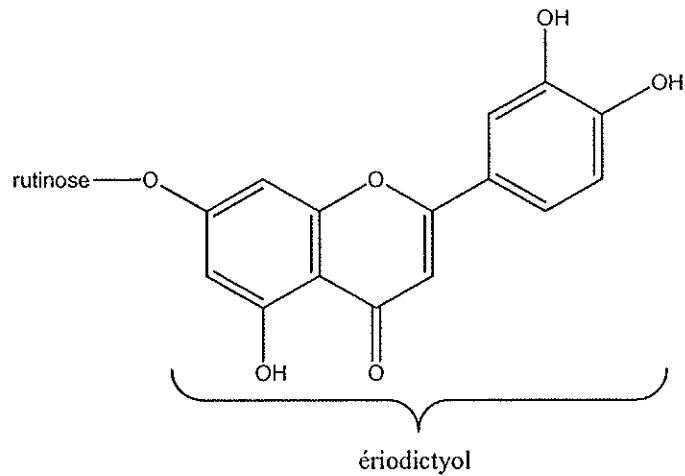
IV.2.3.1. Flavonoïdes.

Les composés identifiés dans le fruit de l'oranger amer ont comme structure de base les noyaux flavanone, flavonol et flavone.

- Hétérosides de flavanone.

Quatre composés ont été signalés : l'ériocitrine, l'hésperidine, la naringine et la néohésperidine.

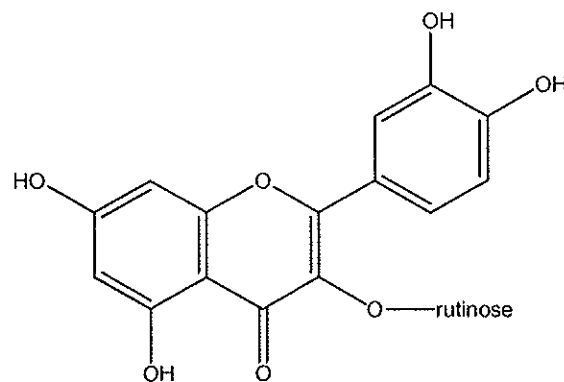
- ériocitrine (=ériocitroside)



Son ose est le rutinose et sa génine 5, 7, 3', 4', tétrasubstituée est l'ériodictyol liée au rutinose par le groupement hydroxyle en C₇ (Bruneton J.). L'ériocitrine présente une zone de fluorescence rouge-violet sous UV à 365 nm (Wagner H., et al.).

➤ Hétérosides de flavonols.

- rutine (=rutinoside)

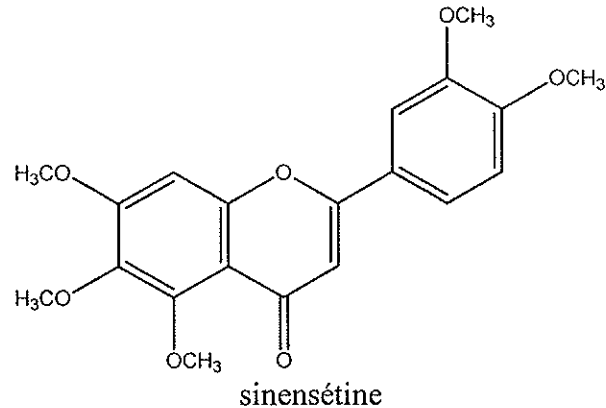


Cette molécule est constituée d'un ose, le rutinose, et d'une génine, le quercétol, polysubstituée en 3, 5, 7, 3', 4', liée au sucre par son groupement hydroxyle en C₃ (Bruneton J.).

Cette molécule présente une zone de fluorescence orange sous UV à 365 nm (Wagner H., et al.).

➤ Composés flavonoïdiques polyméthoxylés (Wichtl M., et al. - Kawaii S., et al.).

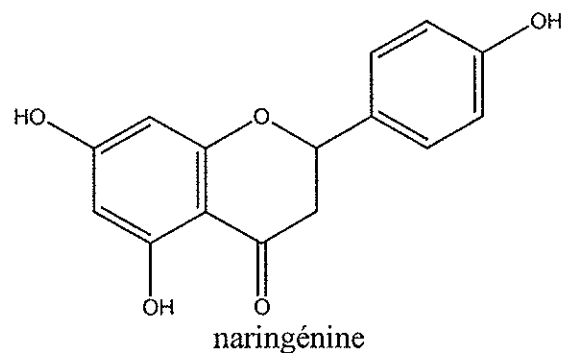
Leur structure de base est le noyau flavone. Trois composés ont été signalés : la sinensétine, la nobilétine et la tangérétine.



Ces 3 composés chimiques, particulièrement lipophiles, sont des principes non amers.

➤ Flavanones.

Un autre composé à noyau flavone qui a été identifié dans l'orange amère est la naringénine.



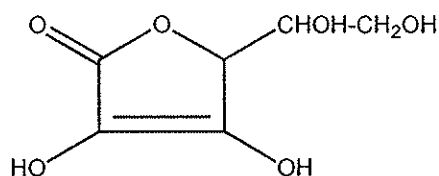
IV.2.3.2. Composés triterpéniques amers : les limonoïdes.

Comme dans le cas de la fleur, il s'agit de la limonine, provenant de l'acidification et de la lactonisation de l'acide limonoïque monocarboxylique qui existe sous la forme d'un sel non amer dans le fruit frais et intact. La limonine est responsable de l'amertume se développant progressivement dans le jus de fruit après son expression (Bruneton J.).

La limonine se rencontre principalement dans les pépins (Wagner H., et al.).

IV.2.3.3. Acide ascorbique.

Bien que le bigaradier ne soit pas la source principale de vitamine C dans le règne végétal, il en contient une quantité non négligeable permettant de la citer parmi les principes actifs de l'orange amère (Weil P.).



acide ascorbique

IV.2.3.4. Divers acides.

Ils existent à l'état de traces, il s'agit de :

- acide salicylique
- acide aurantiamarique
- acide gallique
- acide citrique
- acide malique (Giraud N.).

IV.2.3.5. Constituants divers.

- cellulose
 - hémicellulose
 - lignine
 - pectine en grandes quantités
- } (Weil P.)
(Wichtl M., et al.)

Remarque : les graines de fruits contiennent des substances amères dont la principale est la limonine accompagnée de déoxylimonine, nomiline, obacunone et déacétylnomiline (Bellakhdar J.).

IV.3. Conclusion.

Contrairement à l'huile essentielle où les études sur la composition chimique sont plus complètes, permettant de faire la comparaison entre le contenu de chaque HE, pour les autres composés peu d'études ont été faites et peu de composés ont été signalés.

Il est donc difficile de faire la différence entre les trois parties utilisées au niveau de leur composition chimique. Malgré tout, nous allons regrouper sous forme de tableau les caractéristiques de la composition chimique de la fleur, de la feuille et du fruit du bigaradier en tenant compte de tous les groupes chimiques cités.

Organes botaniques	Huile essentielle (teneur en %)	Différents groupes chimiques constituant l'HE	Teneur de ces groupes chimiques	Groupe majoritaire	Constituant majoritaire	Autres constituants présents dans les organes botaniques de l'oranger amer
Fleur	HE de néroli bigarade (entre 0,1 et 0,6%)	Hydrocarbures monoterpéniques	40%	Monoterpènes oxygénés	linalol (40%)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ hétérosides flavonoïdiques (naringine, néohespéridine, néoverlicitrine) ▪ acides aminés (asparagine, tyrosine, valine, isoleucine, alanine) ▪ stéroïdes (β-sitostérol, β-daucostérol...) ▪ molécules diverses (synéphrine, adénosine)
		Monoterpènes oxygénés	52%			
		Hydrocarbures sesquiterpéniques	1%			
		Sesquiterpènes oxygénés	4%			
		Composés divers	0,7%			
Feuille	HE de petitgrain bigaradier ($\geq 0,3\%$)	Hydrocarbures monoterpéniques	21%	Monoterpènes oxygénés	acétate de linalyle (45%)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ flavonoïdes (hétérosides flavonoïdiques, flavonoïdes polyméthoxylés) ▪ limonoïdes (limonine) ▪ bases organiques (stachydrine) ▪ coumarines (méranzine, limettine, ombelliférone, ostholé) ▪ stéroïdes (stigmastérol, β-sitostérol, frideleine) ▪ acides gras (acides myristique, myristoléique, palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique, linoléénique)
		Monoterpènes oxygénés	81%			
		Hydrocarbures sesquiterpéniques	6%			
		Sesquiterpènes oxygénés	0,2%			
		Composés divers	0,3%			
Fruit	HE d'orange amère ($\geq 2\%$)	Fraction volatile		Hydrocarbures monoterpéniques	limonène (95%)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ composés flavonoïdiques (hétérosides de flavanone, de flavonol, flavanone, flavonoïdes polyméthoxylés) ▪ limonoïdes (limonine) ▪ acide ascorbique ▪ divers acides (acides salicylique, gallique, malique, citrique, aurantiamarique) ▪ constituants divers (cellulose, hémicellulose, lignine, pectine)
		Hydrocarbures monoterpéniques	98%			
		Monoterpènes oxygénés	1%			
		Hydrocarbures sesquiterpéniques	0,3%			
		Sesquiterpènes oxygénés	0,1%			
Composés divers	0,7%	Coumarines	méranzine (47%)			
Fraction non volatile (1 à 10% de l'HE)						
Coumarines	71%					
Furanocoumarines	19%					
Flavonoïdes polyméthoxylés	10%					

Tableau 19 : Récapitulatif de la composition chimique des trois organes botaniques de l'oranger amer .

5^{ème} chapitre

Les propriétés biologiques de l'oranger amer

Dans cette partie, nous étudierons un certain nombre de propriétés biologiques de l'oranger amer qui font l'objet d'études expérimentales, à savoir :

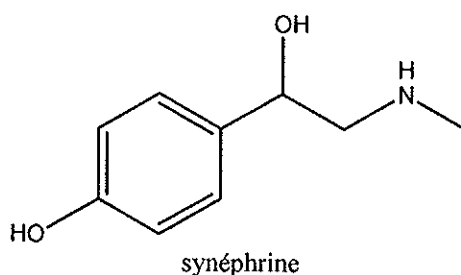
- les propriétés adrénérgiques (effets amincissant et cardiovasculaire)
- les propriétés veinotoniques-vasculoprotectrices
- l'activité antimicrobienne
- l'activité antimutagène
- les propriétés sédatives et anxiolytiques
- l'activité anti-inflammatoire et analgésique

V.1. Action adrénérgique.

L'action adrénérgique de l'oranger amer se manifeste par un effet amincissant recherché et des effets secondaires cardiovasculaires pouvant être graves.

V.1.1. Effet amincissant.

Il est le résultat de l'action β -adrénérgique due à la présence d'une molécule chimique : la synéphrine que l'on retrouve dans l'écorce de l'orange amère, ainsi que dans les fleurs.



La synéphrine est un alcaloïde β -sympathomimétique indirect qui va agir de manière spécifique sur les récepteurs β_3 adrénérgiques situés à la surface des adipocytes. Ces récepteurs sont impliqués dans les mécanismes de la lipolyse et de la thermogénèse. La stimulation de ces récepteurs entraîne un accroissement des dépenses énergétiques : c'est le phénomène de thermogénèse. Ce processus naturel est à l'origine de l'augmentation du déstockage et de la combustion des graisses, entraînant alors un effet amincissant chez les humains et les animaux (Pellati F., et al. - Colker M.R., et al.).

Aussi au vu de son action sur les cellules des tissus graisseux, l'oranger amer, contenant de la synéphrine, s'est retrouvé l'objet de quelques études afin de mettre en évidence son action amincissante.

Ainsi, une étude menée par Calapai et son équipe à la fin des années 90 avait pour sujet d'observer les effets de l'administration répétée d'extraits hydroalcooliques de fruits de *Citrus aurantium* var. *amara* Link sur la prise de nourriture et l'augmentation de la masse corporelle dans une population de rats.

Dans le cadre de cette étude, les extraits hydroalcooliques de fruits de *Citrus aurantium* étaient dosés à 4% de synéphrine (Ci. au. 4%) et à 6% de synéphrine (Ci. au. 6%) et provenaient respectivement de l'Inde et des Etats-Unis.

Les rats utilisés étaient des mâles pesant entre 240 et 280 grammes.

Les animaux ont subi quotidiennement un gavage gastro-oesophagien entre 10 heures et 12 heures d'une solution saline dans laquelle les extraits de fruits de *Citrus aurantium* avaient été dissous.

Les prises de nourriture et de poids ont été étudiées chez les animaux traités pendant 7 jours consécutifs.

Les doses utilisées furent les suivantes :

- extrait à 4% : 2,5 mg/kg – 5 mg/kg – 10 mg/kg – 20 mg/kg
- extrait à 6% : 2,5 mg/kg – 5 mg/kg – 10 mg/kg – 20 mg/kg
- un troisième groupe ne recevant que le véhicule (solution saline sans extrait) sert de groupe témoin.

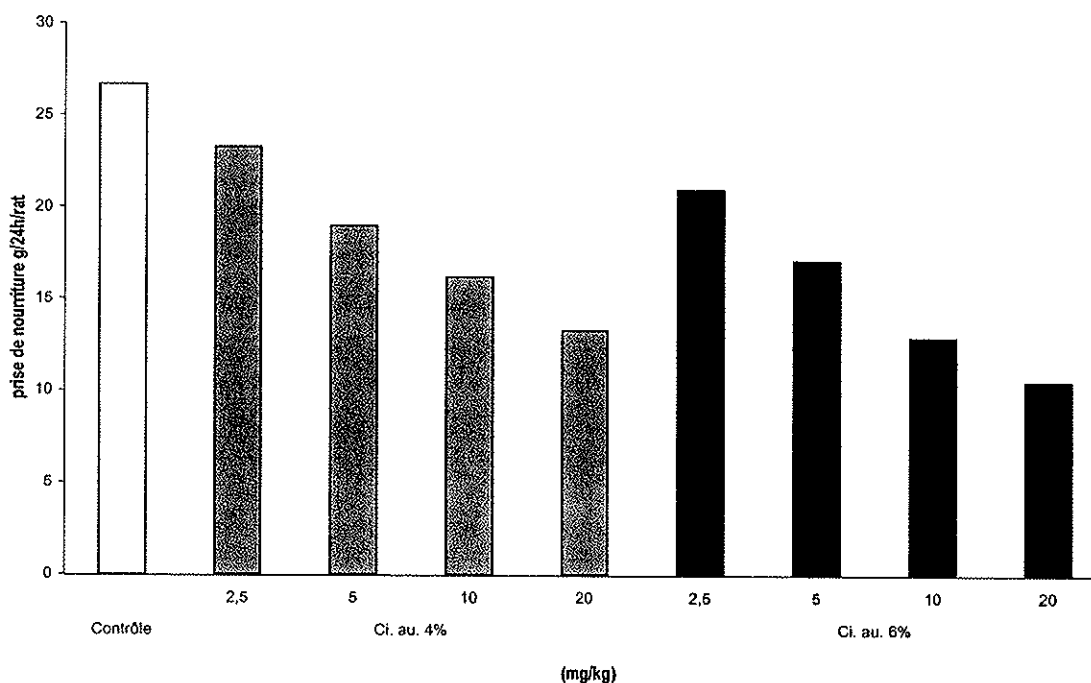
Le nombre de rats dans chaque groupe n'a pas été indiqué.

La prise de nourriture a été mesurée en pesant chaque jour à 10 heures les récipients contenant la nourriture destinée aux rats.

Les données ont été exprimées pour chaque rat en g/24 heures.

La prise de poids a été exprimée en % par rapport au poids de base de l'animal.

Les résultats montrent qu'une administration quotidienne d'extraits hydroalcooliques de fruits de *Citrus aurantium* à une population de rats mâles pendant 7 jours consécutifs entraîne une réduction significative de la prise de nourriture et de la masse corporelle ; cette réduction étant dose-dépendante (par rapport à la teneur en synéphrine dans les différents extraits).



Ci. au.4% : extrait de *Citrus aurantium* dosé à 4% de synéphrine.
Ci. au.6% : extrait de *Citrus aurantium* dosé à 6% de synéphrine

Figure 6 : effets d'une administration orale quotidienne de deux extraits de *Citrus aurantium* sur la prise de nourriture des rats.

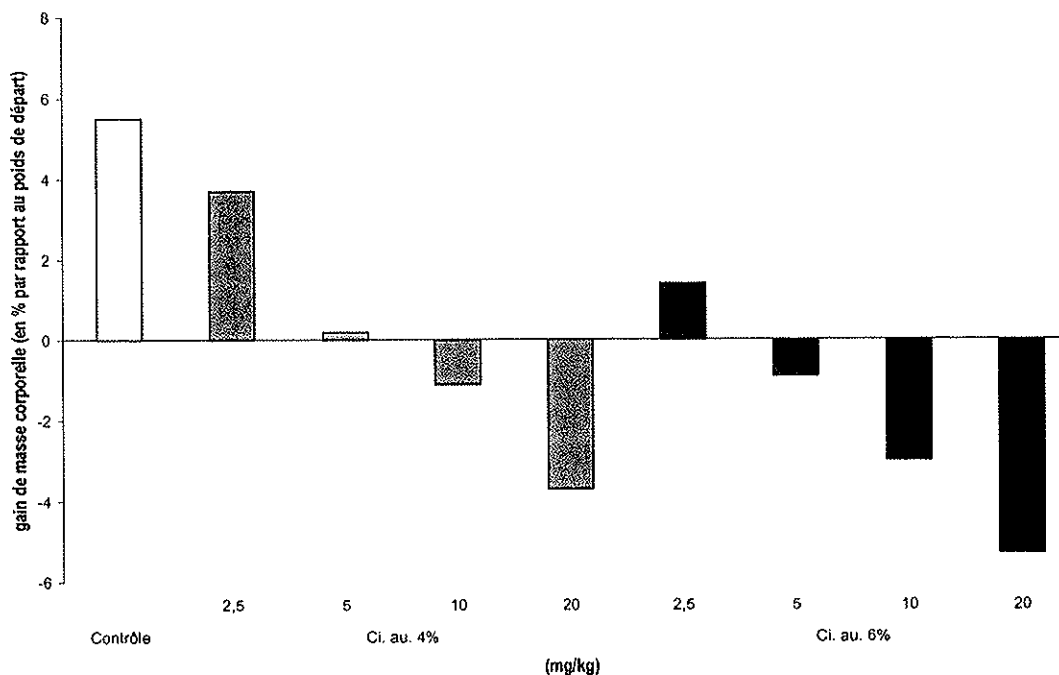


Figure 7 : effets d'une administration orale quotidienne de deux extraits de *Citrus aurantium* sur le gain de masse corporelle des rats.

D'après les auteurs, ces deux effets pourraient être expliqués par l'activité β -adrénergique de la synéphrine (Calapai G., et al.).

En 1999, l'étude de Colker effectuée chez des adultes obèses a permis de démontrer l'utilité d'associer un extrait de *Citrus aurantium* var. *amara* Link, la caféine et le millepertuis à un régime alimentaire et à un programme d'exercices physiques afin d'obtenir une perte de poids chez des adultes en bonne santé mais en surcharge pondérale.

L'extrait de *Citrus aurantium* utilisé contenait 6% de synéphrine et était employé pour son action β -adrénergique au niveau des récepteurs β_3 des adipocytes.

La caféine, une base méthylxanthine, permettait de potentialiser le phénomène de thermogénèse et le millepertuis régulaient l'humeur des patients.

Il s'agissait ici d'une étude randomisée en double aveugle dont les sujets étaient âgés de plus de 21 ans, avec un indice de masse corporelle supérieur à 25 kg/m².

Il existait des critères d'exclusion dans le protocole d'étude qui incluaient :

- les problèmes thyroïdiens
- les maladies cardiaques
- les cancers
- les virus VIH/SIDA
- la grossesse/l'allaitement
- l'hypertension artérielle
- les traitements par des inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO)
- les patients sous régime hypocalorique
- l'anorexie
- les sujets n'ayant jamais pratiqué d'activité sportive.

Les 23 sujets de cette étude ont été répartis en 3 groupes :

- groupe A

Il comportait les sujets recevant quotidiennement le traitement constitué par un mélange de 975 mg d'un extrait de *Citrus aurantium*, 528 mg de caféine et 900 mg de millepertuis.

- groupe B

Il comprenait les sujets recevant un placebo de maltodextrine.

- groupe C

Il comportait les sujets ne recevant rien et servant de groupe de contrôle.

L'étude a duré 6 semaines pendant lesquelles les patients ont suivi un entraînement physique à raison d'une séance de 45 minutes 3 fois par semaine. Durant ces entraînements, les sujets parvenaient à 70% de leur capacité cardiaque.

Les groupes A et B ont reçu leur traitement quotidiennement et tous les sujets ont dû s'astreindre à un régime hypocalorique de 1800 Kcal/jour supervisé par un diététicien.

Chaque individu a été évalué juste avant le début de l'étude, puis à 3 semaines et à 6 semaines de traitement. A chaque visite programmée au laboratoire, les mesures hémodynamiques, l'électrocardiogramme, les analyses d'urine, la détermination de la masse corporelle ont été effectués. Les sujets ont été pesés 4 heures après avoir mangé, la vessie vide et en sous-vêtements.

Sur les 23 sujets qui entrèrent dans le programme, 20 accomplirent les 6 semaines entières :

- groupe A : n=9
- groupe B : n=7
- groupe C : n=4

Au commencement de l'étude, il n'y avait pas de différences significatives concernant les caractéristiques évaluées parmi les 3 groupes d'étude (âge, pression artérielle, indice de masse corporelle, taux de métabolisme basal, pourcentage de la masse grasseuse, masse corporelle, taux de glucose sanguin, taux de cholestérol total et de triglycérides).

Les résultats ont été regroupés dans le tableau ci-dessous :

Mesures	Groupe A (n=9)	Groupe B (n=7)	Groupe C (n=4)
Age	38,0±15	41,1±9,1	57,8±8,9
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	29,5±2,8	28,8±3,4	26,8±1,7
Poids (kg)	90,9±17,5	83,6±17,5	78,1±11,5
% de masse	26,3±7,1	25,4±5,6	23,2±4,6
Masse grasseuse (kg)	24±11,3	46,1±6,05	17,8±2,6
Métabolisme de base (Kcal/jour)	2026±279	1908±456	1859±304
Taux de glucose (mg/dL)	89±18,2	86,1±18,2	88±17,9
Cholestérol total (mg/dL)	216±62	200±45	209±50
Triglycérides (mg/dL)	119±65	169±153	142±88

Groupe A : traitement (extrait de *Citrus aurantium*, caféine et millepertuis)

Groupe B : placebo de maltodextrine

Groupe C : contrôle

Tableau 20 : caractéristiques de base des 3 groupes d'études.

Après les 6 semaines de traitement, les sujets du groupe A parvinrent à une diminution de leur masse corporelle (1,4 kg) ainsi que de leur masse graisseuse avec une réduction moyenne de 2,9% (avant traitement, cette masse graisseuse représentait 26,3% de la masse corporelle, après traitement, elle en représentait 23,4%).

Quant au groupe B (groupe placebo), il aurait montré une tendance à la diminution de la masse corporelle et de la masse graisseuse et le groupe C démontra une tendance à perdre de la masse graisseuse.

Cependant, les résultats obtenus par les groupes B et C ne sont pas significatifs, et ceux du groupe A sont peu convaincants dans la mesure où la différence des valeurs entre le début et la sixième semaine de traitement n'est pas très éloignée de celle des groupes B ou C ; excepté pour le métabolisme de base, mais le changement reste faible (le nombre de kilocalories dépensées chaque jour passe de 2026 à 2069).

Mesures	Données de base	6 semaines	Différence
Poids (kg)			
Groupe A	90,9±17,5	89,5±16	-1,5
Groupe B	83,6±17,5	82,7±18	-1,1
Groupe C	78,1±11,5	77,7±10,5	-0,05
% de graisse			
Groupe A	26,3±7,1	23,4±6,9	-2,9
Groupe B	25,4±5,6	26,2±4,8	+1,8
Groupe C	23,2±4,6	21,0±3,7	-2,2
Masse graisseuse (kg)			
Groupe A	24,6±11,3	21,5±10,1	-13,0
Groupe B	46,1±6,05	21,5±5,9	+0,3
Groupe C	17,8±2,6	16,0±1,4	-10,0
Métabolisme de base (Kcal/jour)			
Groupe A	2026±279	2069±268	+3,0
Groupe B	1908±456	1868±437	-3,0
Groupe C	1859±304	1870±300	+0,1

Groupe A (n=9) : traitement
 Groupe B (n=7) : placebo
 Groupe C (n=4) : contrôle

Tableau 21 : changements physiques et métaboliques des trois groupes d'études.

Aucun changement biologique significatif n'a été mis en évidence après la vérification des fonctions hépatiques, rénales et sanguines.

Les électrocardiogrammes n'ont pas montré de modifications dans le temps, les analyses d'urines n'ont indiqué aucune incidence ni sur la glycosurie, ni sur la protéinurie. Dans aucun des 3 groupes la glycémie n'a subi de changement significatif. Les taux de cholestérol total et de triglycérides ont eu tendance à diminuer dans le groupe A sous traitement alors que dans les deux autres groupes, aucune modification significative n'a été signalée.

Cette étude a permis de mettre en évidence une augmentation relative de la lipolyse ainsi que du métabolisme de base chez les sujets sous traitement.

L'utilisation de *Citrus aurantium* peut entraîner des effets thermogènes tout en maintenant les effets secondaires à leur minimum.

Parmi ces effets secondaires, les plus communément rapportés sont :

- palpitations
- tremblements
- augmentation de la pression artérielle
- sécheresse buccale
- insomnies.

Or, ces effets indésirables ne se sont pas produits avec les sujets de l'étude de Colker.

En résumé, nous pouvons noter que les sujets recevant un traitement ont montré une diminution plus ou moins significative de leurs masses corporelle et grasseuse tandis qu'aucun effet secondaire n'a été décrit malgré la stimulation du système nerveux sympathique. Ceci peut être dû en partie au mécanisme d'action de l'extrait de *Citrus aurantium* (et donc de la synéphrine) lorsqu'il est associé à une méthylxanthine (dans cette étude, il s'agit de la caféine). Le millepertuis a été utilisé dans cette association pour pallier l'apparition d'éventuels symptômes dépressifs (dépression pouvant être un facteur étiologique d'une obésité ou pouvant apparaître en réaction à cette obésité).

Ainsi, au regard des résultats obtenus, l'association *Citrus aurantium*, caféine et millepertuis semble être bien tolérée et combinée à une restriction calorique et à un exercice physique régulier, cette association des 3 éléments induit une perte de poids légèrement supérieure à l'association régime diététique et exercice physique seuls.

D'après les auteurs, cette étude montre que l'association recherchée de l'extrait de *Citrus aurantium*, de la caféine et du millepertuis est fiable et efficace dans la réduction de la masse grasseuse chez des adultes obèses mais en bonne santé par ailleurs (Colker C.M., et al.).

Il a été noté que la synéphrine était active dans le traitement de l'obésité pour un dosage quotidien de 25 mg (Moro C.O., et al.).

V.1.2. Effets cardiovasculaires.

Parallèlement à son action amincissante, il a été mis en évidence que l'administration d'un extrait de *Citrus aurantium* entraînait des effets cardiovasculaires chez les animaux et chez les humains pouvant se révéler graves dans certains cas.

Deux études ont pu rendre compte de l'impact d'un extrait de *Citrus aurantium* sur le système cardiovasculaire.

La première étude menée par Calapai et ses collaborateurs sur les rats avait montré l'action amincissante du *Citrus aurantium* sur les animaux.

Dans le même temps, des effets cardiovasculaires induits par l'administration orale quotidienne d'extraits de *Citrus aurantium* ainsi que l'apparition d'une mortalité ont été observés. Pour cette observation, les rats avaient subi 15 jours de traitement.

A J5, J10 et J15 de traitement, une canule avait été insérée dans la carotide gauche de 10 animaux de chaque groupe et connectée à un appareil de mesure afin de surveiller la pression sanguine et le rythme cardiaque des animaux. Pendant les 15 jours de l'étude, ils ont tous été examinés quotidiennement afin d'enregistrer les signes cliniques et la mortalité.

Les résultats obtenus ont été les suivants : la mortalité n'a pas été observée dans le groupe témoin, elle a été enregistrée uniquement dans les groupes traités par des extraits de *Citrus aurantium*.

Traitement	Dose (mg/kg, per os)	Mortalité (%)
Contrôle	-	-
Ci. au. 4%	2.5	10
	5	10
	10	20
	20	30
Ci. au. 6%	2.5	10
	5	20
	10	30
	20	50

Tableau 22 : effets d'une administration orale répétée (15 jours consécutifs) de deux extraits de fruits de *Citrus aurantium* à 4% et 6% de synéphrine (Ci. au. 4% et Ci. au. 6%) sur la mortalité chez le rat.

Bien que les analyses statistiques n'ont pas montré de différences significatives concernant la mortalité dans le groupe traité par l'extrait dosé à 4% de synéphrine, on peut cependant penser qu'il existe un lien de cause à effet entre le taux de mortalité enregistré chez les rats et l'administration d'un extrait de *Citrus aurantium* dosé à 6% de synéphrine

Quant à la mesure de la pression artérielle, aucun changement significatif n'a été décelé chez les rats traités par les extraits de *Citrus aurantium*.

En effet, il a été rapporté qu'une administration intraveineuse d'extraits de fruits de *Citrus aurantium* à différents dosages (1,25 à 5 mg/kg) produisait une élévation de la pression artérielle par le biais d'une vasoconstriction artérielle, tandis qu'après une administration orale répétée de ces mêmes extraits (dosés à 2,5-5-10 et 20 mg/kg), aucune variation de la pression artérielle n'a été observée.

En revanche, l'analyse de l'activité électrique du myocarde montre des altérations de l'électrocardiogramme pour les groupes traités, se manifestant par des arythmies ventriculaires avec un élargissement de la zone QRS. Ces variations de l'électrocardiogramme pourraient être liées à la présence de synéphrine car le nombre de rats victimes de ces altérations augmente corrélativement à la concentration en synéphrine dans les extraits de *Citrus aurantium*.

Cet effet toxique sur le myocarde pourrait être expliqué par l'activité chronotrope positive de la synéphrine qui agit de manière agoniste sur les adrénorécepteurs β_1 cardiaques.

Ces effets toxiques, présents après 5 jours de traitement, étaient significatifs après 10 jours de traitement et encore évidents après 15 jours de traitement.

Période de traitement (jours)	Altérations de l'ECG		
	Contrôle	Ci. au. 4%	Ci. au. 6%
5	Pas d'altération	1 (10%)	4 (40%)
10	Pas d'altération	4 (40%)	6 (60%)
15	Pas d'altération	5 (50%)	8 (80%)

n=10

Tableau 23 : effets d'une administration orale répétée (20 mg/kg/jour) de deux extraits de *Citrus aurantium* (Ci. au.) à 4% et 6% de synéphrine sur les résultats de l'ECG (électrocardiogramme).

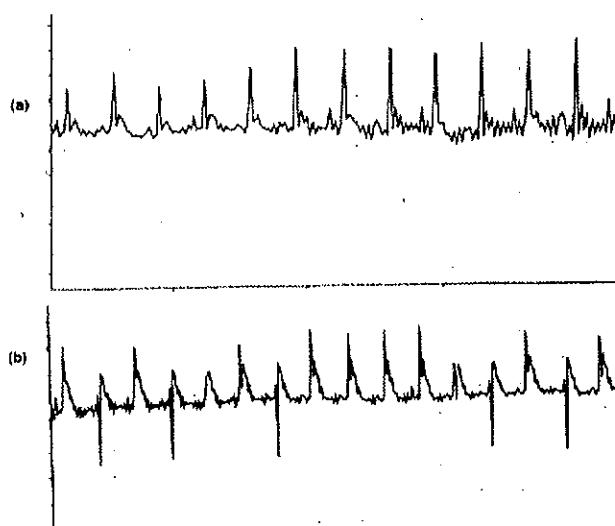


Figure 8 : effets d'une administration orale répétée du véhicule (a) et de *Citrus aurantium* (Ci. au. 6%, 20 mg/kg pendant 15 jours) (b) sur l'activité électrique du myocarde chez le rat

Le graphique (a) montre un électrocardiogramme normal, c'est-à-dire sans altération de l'activité électrique du myocarde.

Le graphique (b) montre une altération de l'activité électrique du myocarde avec des arythmies ventriculaires qui se visualisent par un élargissement de la zone QRS.

En résumé, cette étude sur les rats a montré une mortalité dose-dépendante secondaire à une toxicité cardiovasculaire après des administrations répétées de deux extraits de *Citrus aurantium* dosés à 4% et à 6% de synéphrine (Calapai G., et al.).

Les données ci-dessus suggèrent que les produits contenant des extraits de *Citrus aurantium* peuvent être nuisibles aux individus ayant des problèmes cardiovasculaires comme de l'hypertension artérielle ou des dysrythmies. Des études sur l'homme ont été néanmoins nécessaires afin de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Ainsi, une étude de Penzak et ses associés en 2001 eut pour but de caractériser les effets du jus d'orange amère sur la pression sanguine systolique et diastolique, sur la pression artérielle et sur le rythme cardiaque chez des volontaires en bonne santé.

Douze adultes dont deux femmes ayant une tension artérielle normale (systole < 140 mm de Hg et diastole < 90 mm de Hg) âgés de 20 à 27 ans participèrent à cette étude. Les volontaires pour cette recherche ne fumaient pas, n'avaient pas d'antécédents d'hypertension artérielle et n'étaient pas sous traitement médicamenteux. Pendant la durée de l'étude, aucune femme n'était sous contraception orale.

Durant cette étude les sujets ont été répartis en 2 groupes. Sept jours plus tard, les groupes ont été intervertis. A la fin de l'étude, chaque sujet aura été tour à tour dans le groupe 1 puis dans le groupe 2.

- groupe 1 : ingestion de 8 onces (1 once = 28,35 g) de jus d'orange amère fraîchement pressée suivie d'une deuxième ingestion 8 heures plus tard.
- groupe 2 : groupe de contrôle avec ingestion de 8 onces d'eau suivie d'une autre ingestion 8 heures plus tard.

La nuit précédant le premier jour de l'étude, les sujets durent absorber 8 onces de jus d'orange amère pour le groupe 1 et 8 onces d'eau pour le groupe 2. Le matin suivant, les techniciens chargés de l'étude mesurèrent le rythme cardiaque des participants à partir du pouls radial et prirent en double exemplaire leur pression sanguine diastolique et systolique. Puis les sujets réitérèrent l'opération de la veille.

Les pressions sanguines systoliques et diastoliques ainsi que le rythme cardiaque furent alors mesurés toutes les heures pendant 5 heures.

Les sujets s'abstinrent de manger et de boire pendant les 2 heures qui suivirent l'ingestion du jus d'orange amère et de l'eau. Ils eurent ensuite une collation. Puis, pendant les 3 heures restantes de l'étude, les participants ne furent pas autorisés à manger mais avaient la possibilité de boire.

Les 12 sujets accomplirent les deux phases de l'étude sans effets secondaires. Au vu des résultats rassemblés dans le tableau ci-dessous, on se rend compte que le jus d'orange amère n'entraîne pas d'effets significatifs sur les valeurs hémodynamiques mesurées.

	pression sanguine systolique (mmHg)		pression sanguine diastolique (mmHg)		pression artérielle (mmHg)		rythme cardiaque (battements/min)	
	JOA	Eau	JOA	Eau	JOA	Eau	JOA	Eau
Base (0h)	119±8,6	116±9,7	69±6,9	73±9,3	85±7,9	87±8,3	67±13	71±11,2
1 heure	118±14,9	114±10,1	75±11,6	70±9,6	90±11,4	87±7,5	73±10,1	68±7,5
2 heures	119±12	116±7,0	73±7,8	69±7,3	87±6,7	86±6,2	71±7,6	68±10,4
3 heures	120±12,3	118±9,9	72±12,7	69±6,1	88±11,5	86±6,2	71±10,4	73±11,3
4 heures	122±15,1	120±14,9	69±9,9	72±7,9	86±9,8	89±9,7	72±8,6	69±9,2
5 heures	123±16,7	118±12,6	71±8,0	74±11,1	88±9,1	89±10,9	70±7,4	70±9,9

Tableau 24 : effets hémodynamiques du jus d'orange amère (JOA).

Les indices cardiovasculaires n'ont pas été significativement altérés par l'ingestion de jus d'orange amère bien qu'il contient des quantités marquées de synéphrine. Les patients absorbèrent ainsi 13 à 14 mg de synéphrine par prise.

Déjà lors d'une étude antérieure sur les effets cardiovasculaires de l'administration de 10 mg de synéphrine par voie orale chez des volontaires sains, les résultats avaient révélé une petite élévation (mais statistiquement significative) des résistances périphériques 30 à 60 minutes après l'ingestion tandis que les autres indices hémodynamiques n'avaient pas été affectés.

La faible biodisponibilité de la synéphrine (20 à 38%) peut vraisemblablement expliquer l'absence d'effets cardiovasculaires observés lors de cette précédente étude ainsi que dans les recherches plus récentes de Penzak et ses associés.

La biodisponibilité de la synéphrine serait comparable que l'on absorbe un jus d'orange amère ou la molécule chimique sous une autre forme orale.

Après administration orale, la synéphrine subit une biotransformation hépatique et intestinale par sulfoconjugaison et désamination oxydative par la mono-amine oxydase.

Cependant, d'après les auteurs, il est improbable que ce soit le protocole d'étude envisagé ici qui soit à l'origine de l'absence d'effets hémodynamiques toxiques.

En résumé, les résultats de cette étude (à savoir qu'il n'a pas été observé de modifications des paramètres hémodynamiques chez des volontaires sains après administration du jus d'orange amère contenant des quantités importantes de synéphrine) suggèrent que le jus d'orange amère est administré en toute sécurité chez des individus en bonne santé et ayant une tension artérielle normale. Aussi, l'absorption de synéphrine à la dose de 13 à 14 mg chez des individus sains n'entraîne pas d'effets cardiovasculaires toxiques.

Cependant, d'après les auteurs, la consommation de jus d'orange amère est à éviter dans les populations présentant une sévère hypertension artérielle, une tachyarythmie, un glaucome à angle fermé ou traitées par des antidépresseurs de type IMAO (Penzak S.R., et al.).

V.2. Action veinotonique – vasculoprotectrice.

Cette action est due aux flavonoïdes présents dans les 3 organes principaux de l'oranger amer : fleurs, feuilles et surtout péricarpes des fruits. Ces flavonoïdes, appelés dans ce cas citroflavonoïdes sont principalement, comme nous l'avons déjà vu, des hétérosides de flavanones :

- néohespéridine
- naringine
- hespéridine
- ériocitrine
- néoériocitrine

Mais ce sont également des hétérosides de flavonols (rutine), des hétérosides de flavone (néodiosmine) et des composés flavonoïdiques polyméthoxylés (sinensétine, nobilétine, tangérétine).

Ces molécules sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires et de renforcer leur résistance. Cette notion d'effet vasculoprotecteur est liée historiquement à l'observation que certaines manifestations du scorbut guéries par l'administration de

citron ne le sont pas par l'administration de la seule vitamine C. L'hypothèse a donc été émise que l'acide ascorbique devait être associé à un facteur C₂ ou P (facteur vitaminique P) pour pouvoir agir. Ce facteur P a été dans un premier temps identifié aux flavonoïdes.

Même si la FDA (Food and Drug Administration) ne reconnaît aucune activité à ces flavonoïdes, et, si peu d'importance est accordée à leur valeur thérapeutique (un important effet placebo a été observé dans les pathologies concernées, à savoir notamment dans l'insuffisance veineuse chronique des membres inférieurs) il est néanmoins important de signaler cette action veinotonique-vasculoprotectrice chez l'oranger amer de par la présence importante de flavonoïdes dans cette espèce végétale. De plus, la France est un pays où les flavonoïdes font l'objet d'une large prescription médicale et d'une importante auto-médication dans le domaine des pathologies vasculaires mineures.

Ces flavonoïdes peuvent être utilisés seuls ou dans des associations (entre eux ou avec des molécules d'autres familles comme l'acide ascorbique, les ruscosides...).

Les formes fortement dosées en citroflavonoïdes ont comme indications reconnues :

- l'amélioration des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolympatique,
- le traitement d'appoint des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire,
- le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.

L'efficacité des formes fortement dosées est significativement, mais légèrement, supérieure à celle d'un placebo.

Cette action veinotonique-vasculoprotectrice sera davantage développée dans le sixième chapitre sur les diverses utilisations de l'oranger amer (Bruneton J.).

V.3. Action antimicrobienne.

Cette action antimicrobienne s'exerce au niveau des fruits de l'oranger amer par l'intermédiaire de l'huile essentielle d'orange amère que l'on trouve en grande quantité dans la flavedo des fruits.

Une étude effectuée par Caccioni et ses collaborateurs en 1998 a permis de mettre en évidence une corrélation positive entre l'action des monoterpènes et sesquiterpènes de l'huile essentielle d'orange amère et l'inhibition de 2 pathogènes.

Penicillium digitatum et *Penicillium italicum*, 2 agents pathogènes parmi les plus nuisibles pour les fruits des *Citrus* après la récolte sont susceptibles d'infecter le fruit à travers des microblessures de la flavedo provoquées durant la récolte et après le traitement des fruits. Les lésions de la flavedo peuvent ainsi toucher les glandes contenant les huiles essentielles entraînant alors leur évaporation.

En effet, il a été démontré que les oranges blessées libéraient une plus grande quantité de composés terpéniques de l'huile essentielle que les fruits sains. Il est à supposer que les conidies des différentes espèces de *Penicillium* entrent en contact avec les huiles essentielles, ce qui pourrait jouer un rôle dans le processus de pathogénicité.

Pour cette étude, 6 espèces différentes de *Citrus* ont été utilisées dont celle de l'oranger amer (AM). Les fruits nécessaires à l'étude ont été récoltés à maturité.

Les huiles essentielles des fruits sont obtenues par distillation à la vapeur puis asséchées par du sulfate de sodium anhydre et conservées sous azote dans des fioles scellées.

Deux souches de levures pathogènes ont été employées pour l'étude : *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*. Leurs spores ont été obtenues *in vitro* à partir de cultures de monoconidies après incubation pendant 7 jours à 20°C dans un milieu approprié. Ces spores ont ensuite été mises en suspension dans de l'eau stérile. La concentration a été ajustée à 5.10^5 conidies par ml de suspension.

L'activité antifongique est évaluée par détermination du poids sec du mycélium pathogène après incubation dans un milieu liquide auquel les huiles essentielles ont été rajoutées. Pour cela, des flacons de 50 ml contenant 10 ml de bouillon de culture (milieu de Sabouraud dans lequel il a été ajouté 20 µl de suspension de conidies) et les huiles essentielles ont été utilisés. Ces huiles essentielles ont été préalablement diluées dans du méthanol stérilisé puis ajoutées à chaque flacon afin d'obtenir des concentrations s'échelonnant entre 250 et 5000 ppm (V/V). Cinq flacons ont été utilisés pour chaque concentration testée. Quant aux flacons témoins, ils ont été remplis avec les mêmes doses de méthanol pur (9 µl). Une fois fermées, les fioles ont été soumises à une agitation continue à 20°C pendant 5 jours.

Le poids sec du mycélium est obtenu par filtration et dessiccation au four (à 65°C) du contenu de chaque flacon jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

L'index d'inhibition est calculé à partir du poids sec du mycélium. Les doses effectives moyennes (ED₅₀ ; ppm) sont déterminées par graphiques logarithmiques.

Espèces de <i>Citrus</i>	<i>Penicillium digitatum</i> ED ₅₀ *	<i>Penicillium italicum</i> ED ₅₀
<u><i>Citrus sinensis</i></u>		
A1 = Washington Navel	2180,2	5407,5
A2 = Sanguinello	1594,1	4277,4
A3 = Tarocco	1496,9	4470,6
A4 = Moro	1004,6	3147,2
A5 = Valencia Late	2245,6	4330,0
A6 = Ovale	2389,9	4436,3
<u><i>Citrus aurantium</i></u>		
AM = Sour orange	1015.4	1490.6
<u><i>Citrus deliciosa</i></u>		
M1 = Avana	713.3	1977.0
<u><i>Citrus paradisi</i></u>		
P1 = Marsh Seedless	910.3	1498.4
P2 = Red Blush	688.7	2361.7
<u><i>Citrus limon</i></u>		
L1 = Femminello	1056.4	2505.4
L2 = Femminello	574.1	1040.9
L3 = Femminello	569.1	1687.9
<u><i>C. sinensis x Poncirus trifoliata</i></u>		
CZ = Carrizo citrange	275.5	246.2
TY = Troyer citrange	311.8	251.2

*ED₅₀ : il s'agit de la dose effective pour laquelle nous obtenons 50% d'inhibition

Tableau 25 : activité antifongique d'huiles essentielle de *Citrus aurantium*.

Le tableau ci-dessus montre l'activité antifongique de 15 huiles essentielles de *Citrus* dont celle d'orange amère (AM : sour orange) sur les 2 souches de levures pathogènes. L'activité est exprimée par la valeur de l'ED₅₀ en ppm (les flacons témoins ne montrent aucune activité antimicrobienne). Les données du tableau signalent une activité antifongique extrêmement variable selon l'espèce de *Citrus*.

L'huile essentielle d'orange amère montre ainsi une activité moindre que certaines huiles essentielles mais encore significative : elle se situe au 9^{ème} rang et au 4^{ème} rang sur 15 pour son activité inhibitrice respectivement contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*.

<i>P. digitatum</i>	ED ₅₀ = 1015,4 ppm
<i>P. italicum</i>	ED ₅₀ = 1490,6 ppm

Penicillium italicum est plus résistant à l'activité antifongique de l'huile essentielle d'orange amère que *Penicillium digitatum* avec une ED₅₀ plus élevée. Cette constatation est valable pour toutes les huiles essentielles de *Citrus* exceptées pour les 2 variétés de *Citrus sinensis* X *Poncirus trifoliata*.

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus* pourrait être le résultat d'un équilibre quantitatif des divers composants des huiles essentielles où les effets synergiques et additifs prévalent sur les effets opposés.

Il est cependant difficile d'apprécier l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'orange amère étant donné qu'aucune donnée sur l'activité d'une référence n'est disponible (c'est-à-dire un produit connu pour avoir une bonne activité antimicrobienne).

En conclusion, nous pouvons noter que l'huile essentielle d'orange amère pourrait représenter *in situ* une barrière de défense pré-existante interférant ainsi dans les relations entre l'hôte et les organismes pathogènes. Cette activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'orange amère pourrait trouver un champ d'application dans le domaine de l'aromathérapie (Caccioni D.R., et al.).

V.4. Activité antimutagène.

Récemment, il a été mis en évidence qu'un extrait méthanolique de *Citrus aurantium* var. *amara* Link possédait un effet suppresseur sur l'expression du gène UMU de la réponse SOS chez *Salmonella typhimurium* TA 1535/pSK 1002 contre l'agent mutagène furylfuramide.

De cet extrait méthanolique, trois flavones polyméthoxylées ont été isolées comme étant les agents suppresseurs :

1 – tétra-O-méthylscutellaréine	(4 méthoxyles)
2 – sinensétine	(5 méthoxyles)
3 – nobilétine	(6 méthoxyles)

Miyazawa et ses collaborateurs mirent en évidence cette activité antimutagène lors d'une étude publiée en 1999.

La figure ci-dessous montre le principe d'extraction des composés suppresseurs de *Citrus aurantium*.

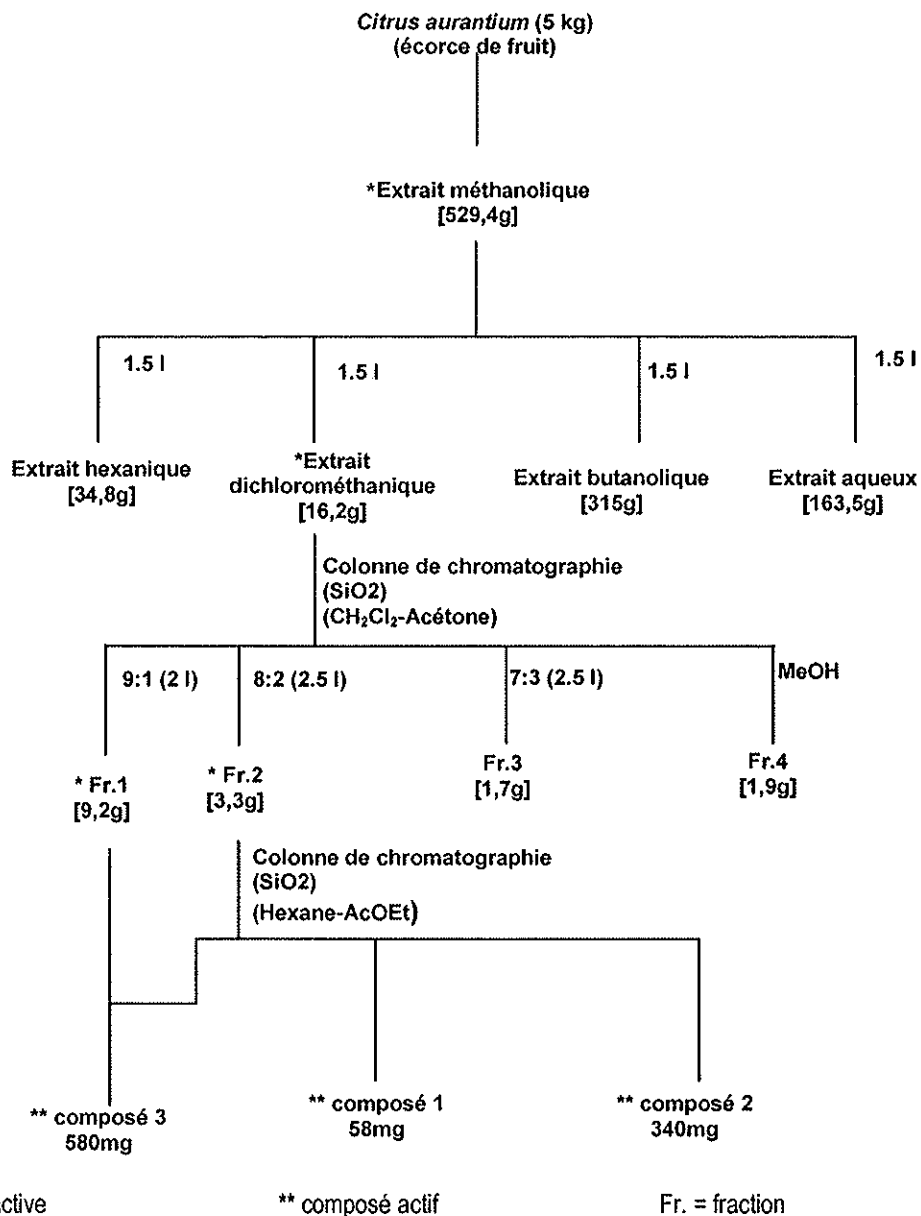


Figure 9 : schéma d'extraction des composés supprimeurs de *Citrus aurantium*.

Cinq kilogrammes de poudre d'écorce de fruits séchés de *Citrus aurantium* ont été mis à macérer pendant 12 heures avec du méthanol.

L'extrait méthanolique, après évaporation du solvant, pèse 529,4 g. Cet extrait va subir ensuite, après sa mise en suspension dans l'eau, des partages liquide-liquide utilisant des solvants de polarité croissante.

L'évaporation des différents solvants utilisés conduit à :

- 34,8 g d'extrait hexanique
- 16,2 g d'extrait dichlorométhanique
- 315 g d'extrait butanolique
- 163,5g d'extrait aqueux

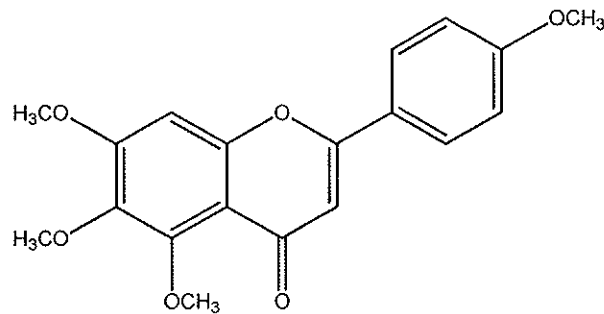
Il a été alors mis en évidence un effet supprimeur de l'extrait dichlorométhanique. Ce dernier a été divisé en 4 fractions par chromatographie sur colonne de silice avec le mélange acétone- dichlorométhane comme éluant.

Ce sont les fractions 1 (9,2 g) et 2 (3,3 g) pour lesquelles il a été détecté un effet supprimeur.

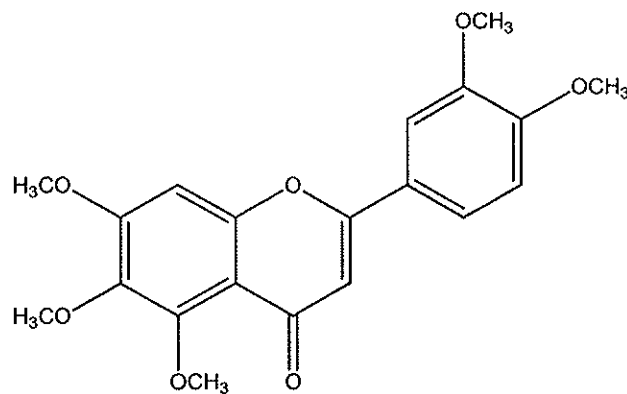
Ces deux fractions 1 et 2 ont donc été fractionnées par chromatographie sur colonne de silice et recristallisées.

Au final, 3 composés supprimeurs ont pu être isolés et identifiés. Il s'agit de trois flavones polyméthoxylés :

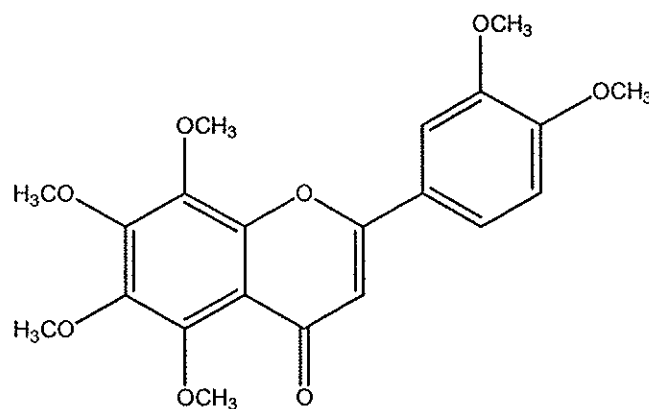
- composé 1 : tétra-O-méthylscutellaréine (58 mg)



- composé 2 : sinensétine (340 mg)



- composé 3 : nobilétine (580 mg)



Afin de confirmer l'activité antimutagène de ces 3 composés, 2 tests et 4 agents mutagènes ont été utilisés :

- test de UMU
- test de AMES

- furylfuramide
- Trp-P-1
- Trp-P-1 activé
- UV

> Le test de UMU a été développé pour évaluer les activités génotoxiques d'une large variété d'agents carcinogènes et mutagènes environnementaux. Il permet de détecter l'activité de la réponse SOS induite par les 4 agents mutagènes cités ci-dessus chez *Salmonella typhimurium* TA 1535/pSK 1002.

L'efficacité de l'induction de la réponse SOS est mesurée par l'activité cellulaire d'une enzyme, la β -galactosidase. Plus l'activité de la β -galactosidase est importante, plus l'induction de la réponse SOS est efficace et plus l'activité exercée par l'agent mutagène sera grande.

> Le test de AMES permet également de mesurer l'activité mutagène de certains composés chimiques. Il utilise pour cela une autre souche de salmonelle, *Salmonella typhimurium* TA 100.

Les résultats obtenus pour chacun des tests sont les suivants :

➤ Test de UMU.

- Réponse SOS induite par le furylfuramide.

composés	furylfuramide	Réponse en fonction de la dose ($\mu\text{mol/ml}$)					ID ₅₀
		contrôle	0,6	0,3	0,1	0,05	
Activité de la β -galactosidase (unités)							
1	495,9	114,6	243,4	246,6	347,7	364,9	0,19
2	495,9	114,6	327,4	406,8	417,0	447,6	
3	495,9	114,6	401,5	453,6	456,8	431,8	

Tableau 26 : suppression de la réponse SOS induite par le furylfuramide chez *S. typhimurium* TA 1535/pSK 1002 par les composés 1, 2 et 3.

Le tableau ci-dessus montre l'inhibition de la réponse SOS induite par le furylfuramide chez *S. typhimurium* TA 1535/pSK 1002 par les composés 1, 2 et 3.

Cette inhibition se manifeste par une diminution de l'activité de la β -galactosidase par rapport aux résultats obtenus avec le furylfuramide. La valeur de cette activité sera donc inversement proportionnelle à l'effet suppresseur exercé par l'agent antimutagène. Donc, plus l'activité de la β -galactosidase sera faible, plus l'agent antimutagène sera suppresseur. A la dose de 0,6 $\mu\text{mol/ml}$, les composés 1, 2 et 3 inhibent l'activité SOS induite respectivement à 67%, 45% et 25%.

Quel que soit le dosage, c'est le composé 1 qui possède les plus grands effets suppresseurs.

De plus, l'effet suppresseur augmente corrélativement au dosage (excepté pour le composé 3 où est observée une activité inhibitrice plus grande à 0,05 $\mu\text{mol/ml}$ qu'à 0,1 $\mu\text{mol/ml}$ et 0,3 $\mu\text{mol/ml}$).

L' ID_{50} (dose inhibitrice à 50%) a une valeur de 0,19 $\mu\text{mol/mL}$ pour le composé 1. Cependant cette valeur isolée ne permet pas d'apprécier l'efficacité du produit étant donné qu'aucune valeur de référence n'a été communiquée.

○ Réponse SOS induite par le Trp-P-1 et le Trp-P-1 activé.

composés	Trp-P-1	Trp-P-1 activé	Réponse en fonction de la dose ($\mu\text{mol/ml}$)						
			Contrôle	0,30	0,15	0,075	0,030	0,015	ID_{50}
			Activité de la β -galactosidase (unités)						
1	532,3		115,2	151,9	248,3	266,1	399,2	387,0	0,024
		669,2	160,6	273,5	353,9	451,9	541,0		0,11
2	532,3		115,2	272,8	305,5	393,1	406,3	508,6	0,14
		669,2	160,6	326,3	445,1	496,7	577,1		0,19
3	532,3		115,2	308,5	333,9	388,6	413,3	438,3	0,20
		669,2	160,6	522,5	573,2	613,2	573,6		

Tableau 27 : suppression de la réponse SOS induite par le Trp-P-1 et le Trp-P-1 activé par les composés 1, 2 et 3 chez *S. typhimurium* TA 1535/pSK 1002.

Le tableau ci-dessus illustre l'activité inhibitrice des composés 1, 2 et 3 sur la réponse SOS induite par le Trp-P-1 et le Trp-P-1 activé. Les composés 1, 2 et 3 sont suppresseurs de la réponse SOS induite par le Trp-P-1 respectivement à 92%, 63% et 54% à la concentration de 0,3 $\mu\text{mol/ml}$.

Il est observé que, quel que soit le dosage, c'est le composé 1 qui a les plus grands effets suppresseurs et sur le Trp-P-1 et sur le Trp-P-1 activé.

Cependant l'activité antimutagène contre le Trp-P-1 activé est plus faible que contre le Trp-P-1 quel que soit le composé considéré.

Au vu de ces résultats il est à suggérer que l'activité antimutagène de ces 3 composés sur le Trp-P-1 est due à l'inhibition de l'activation métabolique du Trp-P-1 par S_9 .

○ Réponse SOS induite par les UV.

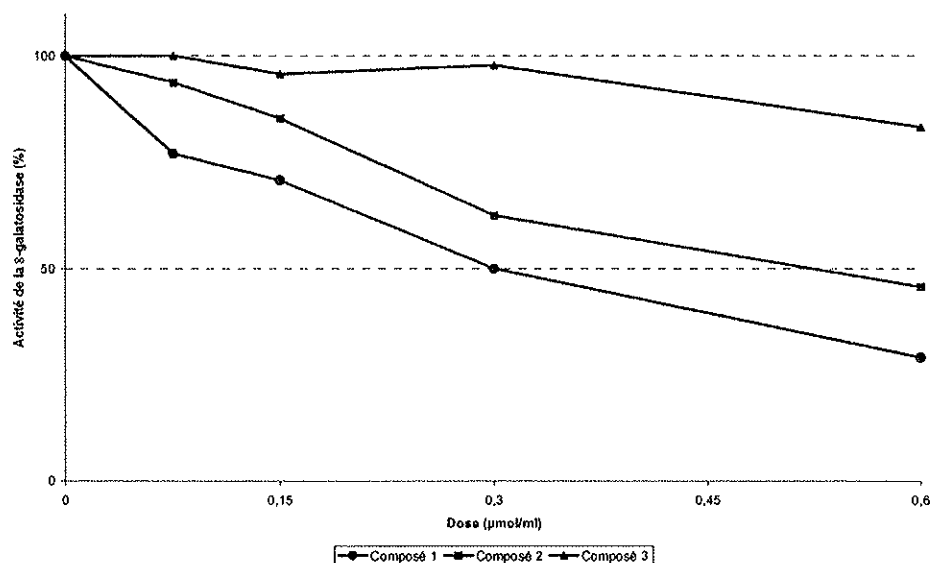


Figure 10 : suppression de la réponse SOS induite par les UV, par les composés 1, 2 et 3.

La figure ci-dessus montre ici encore l'activité inhibitrice des 3 composés sur la réponse SOS induite par les UV.

Les composés 1 et 2 ont un effet supprimeur respectivement de 72% et 55% alors que le composé 3 possède un effet supprimeur beaucoup plus faible : 20%.

Ici aussi c'est le composé 1 qui a l'effet supprimeur le plus important.

L'activité antimutagène des 3 composés contre le furylfuramide, le Trp-P-1 et le Trp-P-1 activé a été complétée dans cette étude par le test de AMES sur *S. typhimurium* TA 100.

➤ Test de AMES.

○ Activité mutagène du furylfuramide.

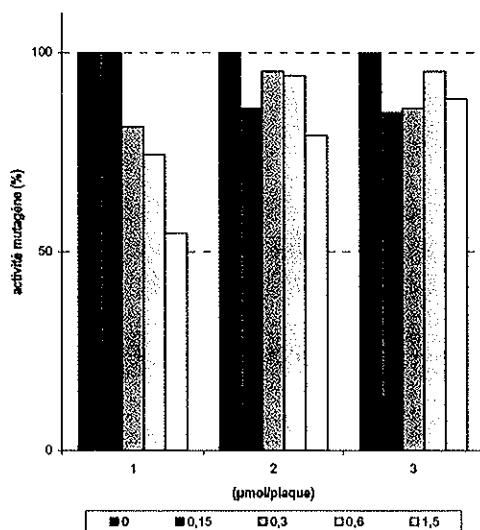


Figure 11 : effets des composés 1, 2 et 3 sur l'activité mutagène du furylfuramide chez *S. typhimurium* TA 100.

L'histogramme ci-dessus nous montre l'existence d'une activité antimutagène contre le furylfuramide. Cette activité antimutagène croît progressivement pour le composé 1 au fur et à mesure que la concentration augmente ; ce qui n'est pas le cas pour les 2 autres composés.

Là encore, c'est le composé 1 qui possède l'effet suppresseur le plus important quel que soit le dosage (excepté pour le dosage à 0,15 $\mu\text{mol/plaque}$). A la plus forte concentration (1,5 $\mu\text{mol/plaque}$) le composé 1 supprime 45% de l'activité mutagène du furylfuramide.

- Activité mutagène du Trp-P-1 et du Trp-P-1 activé.

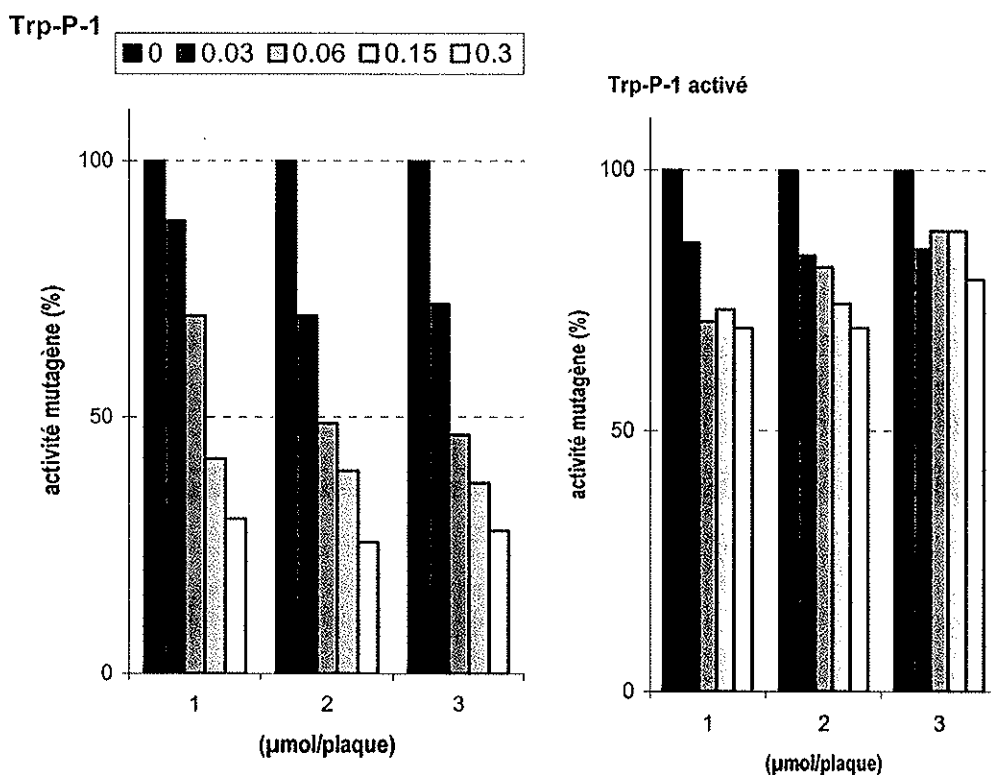


Figure 12 : effets des composés 1, 2 et 3 sur l'activité mutagène de Trp-P-1 et Trp-P-1 activé chez *S.typhimurium* TA 100.

Les 2 histogrammes montrent une activité antimutagène des 3 composés contre le Trp-P-1 et le Trp-P-1 activé.

Il est à noter que l'activité antimutagène contre le Trp-P-1 activé est plus faible que contre le Trp-P-1.

En effet, les composés 1, 2 et 3 suppriment respectivement 70%, 75% et 71% de l'activité mutagène de Trp-P-1 alors qu'ils suppriment l'activité mutagène de Trp-P-1 activé seulement à 30%, 30% et 20%, à la concentration de 0,3 $\mu\text{mol/plaque}$.

Là encore, il est fort probable que l'activité antimutagène de ces 3 composés sur Trp-P-1 soit due à l'inhibition de l'activation métabolique de Trp-P-1 par S_9 .

Conclusion : les tests de UMU et de AMES ont permis de mettre en évidence l'activité antimutagène exercée par 3 composés flavonoïdiques polyméthoxylés sur 2 agents chimiques, le furylfuramide et le Trp-P-1 et sur 1 agent physique, les UV. Ces 3 composés possèdent un effet suppresseur sur l'expression du gène UMU concernant la réponse SOS chez *S. typhimurium* TA 1535/pSK 1002 et chez *S. typhimurium* TA 100. Ces 3 composés ont aussi été testés avec le Trp-P-1 activé pour leur capacité à supprimer l'activation métabolique du Trp-P-1 par S₉. Les composés 1 et 2 ont des effets suppresseurs efficaces contre le Trp-P-1 activé comparés au composé 3. Cependant, les composés 1, 2 et 3 exercent une activité antimutagène plus faible contre le Trp-P-1 activé que contre le furylfuramide et le Trp-P-1. Dans la majorité des tests c'est le composé 1 (tétra-O-méthylscutellaréine) qui possède le potentiel suppresseur le plus important sur les 4 agents mutagènes comparativement aux composés 2 (sinensétine) et 3 (nobilétine). Les effets suppresseurs de ces 3 composés sont décroissants avec l'introduction de groupements méthoxyles (OCH₃) en position 3' et 8. L'efficacité de l'activité antimutagène va donc dépendre du nombre de groupements méthoxyles présents dans la structure des flavones polyméthoxylées (Miyazawa M., et al.).

V.5. Effets sédatifs et anxiolytiques.

L'oranger amer est communément et traditionnellement utilisé en phytothérapie comme traitement alternatif dans les insomnies légères, l'anxiété ainsi que dans les crises épileptiques. Ainsi, il est employé au Brésil comme médication populaire pour son action dépressive sur le système nerveux central.

Aussi, des préparations et extraits obtenus à partir de *Citrus aurantium* var. *amara* Link ont été étudiés dans le but d'évaluer leurs capacités à induire des effets sédatifs-hypnotiques, anxiolytiques et anticonvulsivants.

Des souris suisses mâles pesant entre 35 et 45 g ont été utilisées pour réaliser cette étude.

Au niveau du matériel végétal employé, l'écorce de l'orange amère a permis d'obtenir l'huile essentielle d'orange amère par distillation à la vapeur et les feuilles, une fois traitées, ont permis de récupérer un extrait hydroéthanolique brut ainsi que trois fractions : hexanique, dichlorométhanique et aqueuse.

Les animaux ont reçu par gavage 30 minutes avant le début des expériences 0,5g/kg ou 1g/kg d'un des extraits ci-dessus.

Les animaux du groupe de contrôle reçurent, quant à eux, le véhicule : tween 80 en guise de traitement.

Différents protocoles expérimentaux ont ainsi été mis en place afin d'étudier les divers effets pharmacologiques de l'oranger amer :

- le temps d'endormissement induit par le pentobarbital.

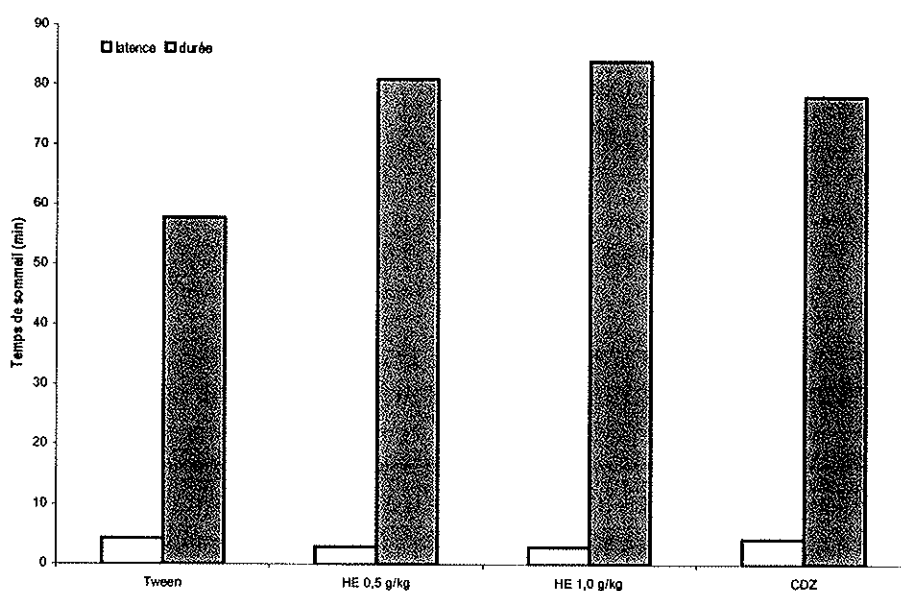
Ce test a pour but d'évaluer l'activité sédatif-hypnotique de l'oranger amer.

Ici, le chlórdiazépoxyde (oxyde de chlórdiazépam) a été employé comme drogue de référence afin de valider les conditions expérimentales. Les animaux reçurent oralement soit l'huile essentielle (0,5 g/kg ou 1g/kg), soit l'extrait ou les fractions, soit

le véhicule (tween 80) soit la drogue de référence. Trente minutes plus tard, chaque souris reçut une injection de pentobarbital sodium (40 mg/kg).

Le temps d'induction (il correspond au temps écoulé depuis l'injection jusqu'à la perte des réflexes) et la durée du sommeil (il s'agit du temps écoulé depuis la perte des réflexes jusqu'au réveil) ont alors été enregistrés pour chaque animal.

Il en résulte que seuls les groupes traités par l'huile essentielle à la dose de 1g/kg et par le chlordiazépoxyde (10 mg/kg) ont subi un accroissement significatif des effets hypnotiques induits par le pentobarbital en dépit d'une similitude des effets biologiques observés parmi les groupes traités.

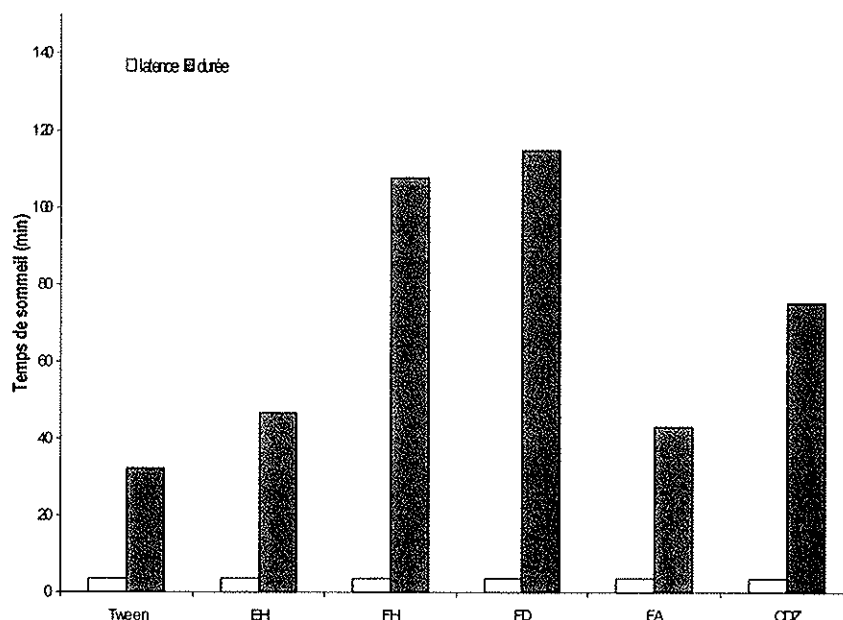


HE : huile essentielle
CDZ : chlordiazépoxyde (10 mg/kg)
n= 9 pour chaque groupe

Figure 13 : effets de l'huile essentielle sur la durée du sommeil des animaux induit par le pentobarbital.

Quant aux préparations obtenues à partir des feuilles, seules les fractions hexanique et dichlorométhanique ont augmenté la durée du sommeil induit par le pentobarbital.

Aucun effet sur le temps d'induction (temps de latence) n'a été observé.



EH, FH, FD, FA : 1g/kg
 CDZ : 10 mg/kg per os

Figure 14 : effets de l'extrait brut et des fractions sur la durée du sommeil des animaux induit par le pentobarbital sodium

- le test du labyrinthe.

Ce test a permis de rendre compte de l'activité anxiolytique de l'oranger amer. Ici, c'est le diazépam (1,2 mg/kg) qui a été utilisé comme drogue de référence. Après avoir absorbé oralement soit l'une des préparations soit le véhicule ou soit le diazépam, les animaux ont été placés individuellement au centre d'un labyrinthe et leurs déplacements dans les couloirs ouverts ou fermés ont été observés durant 5 minutes.

Nous savons que les composés anxiolytiques réduisent l'aversion naturelle des souris pour les couloirs ouverts et encouragent l'exploration. Par conséquent, le temps plus important employé dans les couloirs ouverts devrait être considéré comme étant le reflet d'un effet anxiolytique, en comparaison avec le groupe de contrôle.

Les résultats montrent que l'administration orale de l'huile essentielle à la dose de 1 g/kg a entraîné une augmentation significative du temps passé dans les couloirs ouverts, suggérant ainsi un effet anxiolytique de l'huile essentielle. Tandis que les souris traitées avec l'extrait hydroéthanolique ou les fractions n'ont pas passé plus de temps que le groupe de contrôle (tween 80) dans les couloirs ouverts. Quant aux animaux traités par le diazépam, ils passèrent plus de temps dans les bras ouverts du labyrinthe.

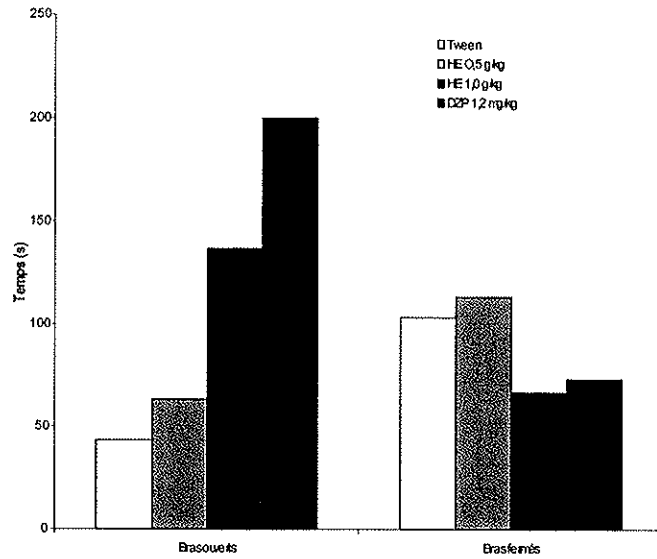
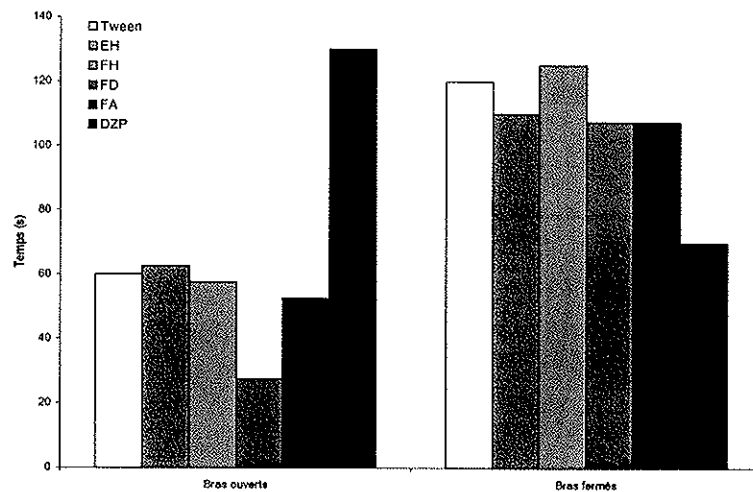


Figure 15 : effets de l'huile essentielle dans le test du labyrinthe chez les animaux.



EH, FH, FD, FA : 1 g/kg
DZP : 1,2 mg/kg

Figure 16 : effets de l'extrait et des fractions dans le test du labyrinthe chez les animaux.

- les tests de « l'open field » et de la tige tournante.

Le test de « l'open field » utilise un espace clos dont le sol est formé de cercles concentriques divisés en segments de surface égale par des lignes irradiant du centre.

Après 30 minutes, 2 heures et 24 heures de traitement par les différentes préparations, les souris ont été individuellement placées au centre de « l'open field » et leurs déplacements ont été enregistrés. Immédiatement après ces observations, ces mêmes souris ont été soumises au test de la tige tournante. Celui-ci consiste à placer les animaux sur une barre horizontale en rotation et à enregistrer le temps total passé sur la barre pour chaque souris durant une séance (c'est-à-dire 3 épreuves successives d'une minute chacune).

Les résultats de ces deux tests n'ont pas montré de différences entre les groupes traités et le groupe de contrôle lorsque l'évaluation a eu lieu 30 minutes après l'administration orale de l'huile essentielle, de l'extrait hydroéthanolique ou de l'une des 3 fractions.

Les mêmes résultats ont été observés 2 heures et 24 heures après l'administration des traitements. Ces données écarteraient la possibilité d'un effet anxiolytique pour l'huile essentielle (1g/kg) observé lors du test du labyrinthe.

- le test des convulsions.

Ce test a eu pour but d'évaluer l'activité anticonvulsivante conférée à l'oranger amer. Les processus convulsifs ont été déclenchés soit par le pentylènetétrazole (85 mg/kg) soit par des électrochocs (50 mA pendant 0,11s).

→ induction des convulsions par le pentylènetétrazole.

La molécule chimique a été injectée à chaque animal à la dose de 6 ml/kg, 30 minutes après l'administration des différentes préparations issues du traitement de l'oranger amer. Les souris ont alors été placées individuellement en cage et observées durant 40 minutes. Lors de cette expérience, ont été enregistrés l'existence et le temps de latence des épisodes cloniques et toniques ainsi que les décès.

Dans ce cas, c'est le chlórdiazépoxyde qui a été employé comme drogue de référence.

→ induction des convulsions par électrochocs.

Les électrochocs ont été administrés 30 minutes après le traitement par les différentes préparations. Pour cette expérience, c'est l'acide valproïque qui a été utilisé comme drogue de référence. Ce sont l'existence et le temps de latence des convulsions toniques (caractérisées par l'extension tonique des pattes arrières) ainsi que le décès des animaux qui ont été enregistrés.

Les résultats ont montré que les différents composés issus du traitement de l'oranger amer n'ont aucune activité anticonvulsivante, ni contre le pentylènetétrazole, ni contre les électrochocs. Cependant, il est à noter que le traitement par l'huile essentielle a permis d'augmenter la période de latence jusqu'à l'apparition de la crise convulsive tonique dans les deux tests.

Traitement (n)	Clonique		Tonique		Mort	
	%	Latence (s)	%	Latence (s)	%	Latence (s)
Tween (10)	100	168 (154-190)	80	706 (398-841)	80	716 (398-858)
HE 0,5 g/kg (11)	100	184 (166-233)	91	1047 (963-1143)	91	1047 (963-1156)
HE 1,0 g/kg (11)	100	211 (160-319)	91	868 (650-1034)	91	877 (662-1034)
CDZ 10 mg/kg (9)	11	402	0	-	0	-
Tween (9)	100	211 (192-300)	78	1033 (818,5-1091)	78	1049 (829-1106,5)
EH 1,0 g/kg (11)	100	368 (208-549)	64	681 (618-948)	64	909 (684-1059)
FH 1,0 g/kg (10)	100	224 (216-352)	90	890 (595-1220)	80	887 (654-1048,5)
FD 1,0 g/kg (10)	100	330 (233-465)	90	1088 (829-1393)	90	1112 (909-1409)
FA 1,0 g/kg (11)	100	336 (208-415)	73	975 (762-1013)	73	993 (770-1181)
CDZ 10 mg/kg (10)	0	-	0	-	0	-

HE : huile essentielle CDZ : chlórdiazépoxyde EH : extrait hydroéthanolique
 FH : fraction hexanique FD : fraction dichlorométhanique FA : fraction aqueuse

Tableau 28 : effets sur les crises d'épilepsie induites par le pentylènetétrazole.

Traitement (n)	Tonique		Mort	
	%	Latence (s)	%	Latence (s)
Tween (20)	100	2,0 (2,0-3,0)	20	14,5 (13,0-30,5)
HE 0,5 g/kg (10)	80	3,0 (3,0-4,0)	0	-
HE 1,0 g/kg (10)	100	2,5 (2,0-3,0)	20	16,5 (14,0-18,0)
ACV 400 mg/kg (20)	20	2,5 (2,0-3,0)	0	-
Tween (10)	100	2,0 (2,0-2,0)	20	17,5 (17,0-18,0)
EH 1,0 g/kg (10)	100	2,0 (2,0-3,0)	0	-
FH 1,0 g/kg (10)	100	2,0 (2,0-2,0)	40	19,0 (18,0-22,0)
FD 1,0 g/kg (10)	90	2,0 (1,0-3,0)	40	17,5 (16,5-20,0)
FA 1,0 g/kg (10)	100	2,0 (2,0-2,0)	10	20,0
ACV 400 mg/kg (10)	10	3,0	0	-

ACV : acide valproïque

Tableau 29 : effets sur les crises d'épilepsie induites par les électrochocs.

En résumé :

(L'huile d'orange amère)

L'huile essentielle à 0,5 g/kg a montré une tendance et à 1 g/kg une capacité à augmenter la durée du temps de sommeil induite par le pentobarbital sodium. Il en est de même pour l'extrait et les fractions obtenus à partir des feuilles du bigaradier qui ont permis une augmentation du temps de sommeil des animaux. Ces données suggèrent ainsi une activité sédative-hypnotique de *Citrus aurantium* var. *amara* Link qui peut donc être utilisé en cas d'insomnie, en accord avec ses usages ethnopharmacologiques.

Son utilisation dans les traitements de l'anxiété, de l'hystérie et de certaines dépressions est également citée.

Ainsi, les tests du labyrinthe, de « l'open field » et de la tige tournante ont été mis en place afin de rechercher l'activité anxiolytique qui est revendiquée à l'oranger amer.

Les résultats ont montré que l'huile essentielle à 1 g/kg était capable d'augmenter le temps passé dans les couloirs ouverts du labyrinthe, suggérant alors un effet anxiolytique. Cependant, cette activité détectée dans le labyrinthe pourrait être due aussi bien à un effet anxiolytique en soi qu'à une modification des comportements d'exploration. Dans les tests de « l'open field » et de la tige tournante, ces comportements ne sont pas altérés puisque les animaux traités agissent de la même manière que ceux du groupe de contrôle, suggérant ainsi que l'huile essentielle ne cause pas de troubles de la coordination motrice et de l'équilibre. De plus, les résultats obtenus pour ces deux tests montrent que les effets détectés dans le labyrinthe n'indiquent pas un faux positif qui serait représenté par l'incapacité des animaux traités à se déplacer dans le labyrinthe, permettant ainsi d'admettre une activité anxiolytique pour l'huile essentielle.

Enfin, aucune des préparations obtenues à partir de l'oranger amer n'a pu protéger les animaux contre les processus de convulsion. Cependant, il a été observé que l'huile essentielle à 0,5 g/kg pouvait augmenter la période de latence des crises toniques dans les deux modèles expérimentaux. Ce même effet, n'a pas eu lieu avec l'huile essentielle à 1 g/kg, il n'est donc pas dose-dépendant.

En conclusion, l'activité anticonvulsivante de ces préparations reste discrète tandis que les résultats obtenus avec l'huile essentielle dans l'anxiété et avec l'huile essentielle et les fractions hexanique et dichlorométhane dans la sédation sont en accord avec l'usage traditionnel accordé à l'oranger amer (Carvalho-Freitas M.I.R., et al.).

V.6. Activités anti-inflammatoire et analgésique.

L'oranger amer est composé chimiquement d'un certain nombre de flavonoïdes dont l'héspéridine que l'on retrouve aussi bien dans les feuilles que dans les fruits de cette espèce végétale. Or l'héspéridine, un hétéroside de flavanone, a montré un potentiel à diminuer les réactions inflammatoires lorsqu'elle est administrée en sous-cutanée dans une population de rats. Cependant, son mécanisme d'action reste à ce jour inconnu.

Des scientifiques ont ainsi réévalué ses activités anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique qui lui sont reconnues dans le but d'un usage potentiel de l'héspéridine en tant qu'agent à visée anti-inflammatoire.

Dans l'étude qui a été menée par Da Silva Emim et ses collaborateurs, les animaux utilisés étaient des rats et des souris albinos mâles et femelles, lesquels avaient été privés de nourriture 4 à 6 heures avant l'administration du traitement par voie orale.

Afin d'étudier les différentes activités de l'héspéridine issue de l'écorce de l'oranger amer, plusieurs modèles expérimentaux ont été mis en place.

Nous les retrouvons résumés comme suit :

Modèles expérimentaux	Activités évaluées	Traitement administré aux groupes de contrôle positif	Animaux utilisés
Œdème des pattes induit par : - les carraghénates (1%) - les dextrans (1%) - l'histamine (0,1%)	ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE	Indométacine (10 mg/kg per os)	Femelles rats pesant entre 150 et 200 g
Pleurésie induite par les carraghénates		Diphénhydramine (60 mg/kg per os)	
Test du coup de queue	ANALGESIE	Indométacine (10 mg/kg per os)	Rats
Constrictions abdominales induites par l'acide acétique (1%)		Fentanyl (0,2 mg/kg en SC)	
Hyperthermie induite par des levures	ANTIPYRETIE	Indométacine (10 mg/kg per os)	Rats mâles âgés de 45 jours
Administration d'un des traitements suivants : véhicule, héspéridine ou indométacine	ACTIVITE ULCEROGENE	Dipyronne de sodium (100 mg/kg per os)	Rats mâles pesant entre 200 et 250 g à jeûn depuis 24 heures

Dans tous les modèles expérimentaux, les animaux furent prétraités 30 minutes avant l'expérimentation par l'une ou l'autre des préparations suivantes :

- le groupe de contrôle.

Il reçut en prétraitement le véhicule constitué de tween 80 et d'une solution saline.

- le groupe à évaluer.

Il reçut l'hespéridine diluée dans une solution saline après dispersion dans 0,1% de tween 80 à la dose de 100 mg/kg en sous-cutanée (SC) pour tous les modèles expérimentaux excepté pour l'œdème des pattes où 3 dosages de l'hespéridine ont été testés : 25, 50 et 100 mg/kg en SC.

- les groupes de contrôle positif servant à valider les conditions expérimentales.

Voir tableau ci-dessus pour les drogues administrées.

Après les expériences effectuées, les résultats obtenus furent les suivants :

• Activité anti-inflammatoire.

Modèle expérimental	Résultats obtenus
Œdème de la patte arrière droite	<p>Induction par les carraghénates :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Volume de la patte arrière droite après induction de l'œdème : $1,15 \pm 0,01$ ml (n=20) soit un volume 32% supérieur à la patte controlatérale dans laquelle une solution saline fut injectée. • Prétraitement des rats par l'hespéridine à 25 mg/kg en SC : aucun effet sur la patte oedémateuse. • Prétraitement par l'hespéridine à 50 et à 100 mg/kg en SC : réduction de l'œdème respectivement de 46% et 63% entre la première et la cinquième heure après l'injection de carraghénates. • Le traitement par l'indométacine a produit des effets de même ampleur qu'avec l'hespéridine à 50 et à 100 mg/kg. <p>Induction de l'oedème par les dextrans :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Volume de la patte oedémateuse : le volume est 60% plus important que celui de la patte controlatérale 60 minutes après l'injection de dextrans. • Prétraitement par l'hespéridine à 100 mg/kg en SC : réduction de l'œdème de 25% et 33% respectivement 2 heures et 3 heures après l'injection de dextrans. • Prétraitement par la diphenhydramine : réduction de l'œdème de 50%, 3 heures après l'injection de dextrans.

Induction de l'œdème par l'histamine :

- Prétraitement par l'hespéridine à 100 mg/kg en SC : pas de réduction significative de l'œdème.
- Prétraitement par la diphenhydramine : réduction de l'œdème de 60%.

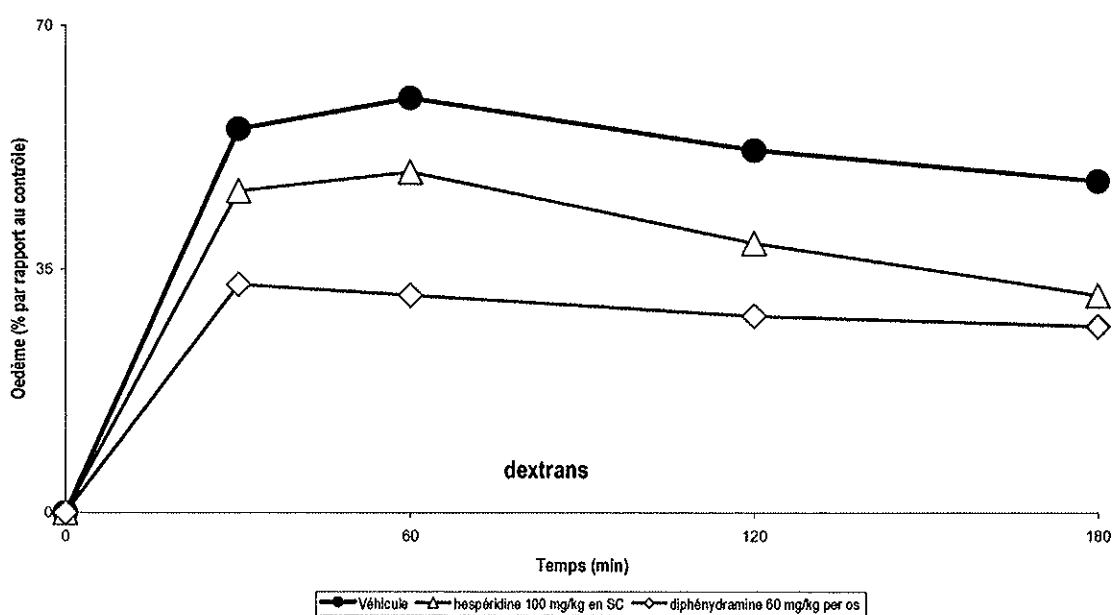
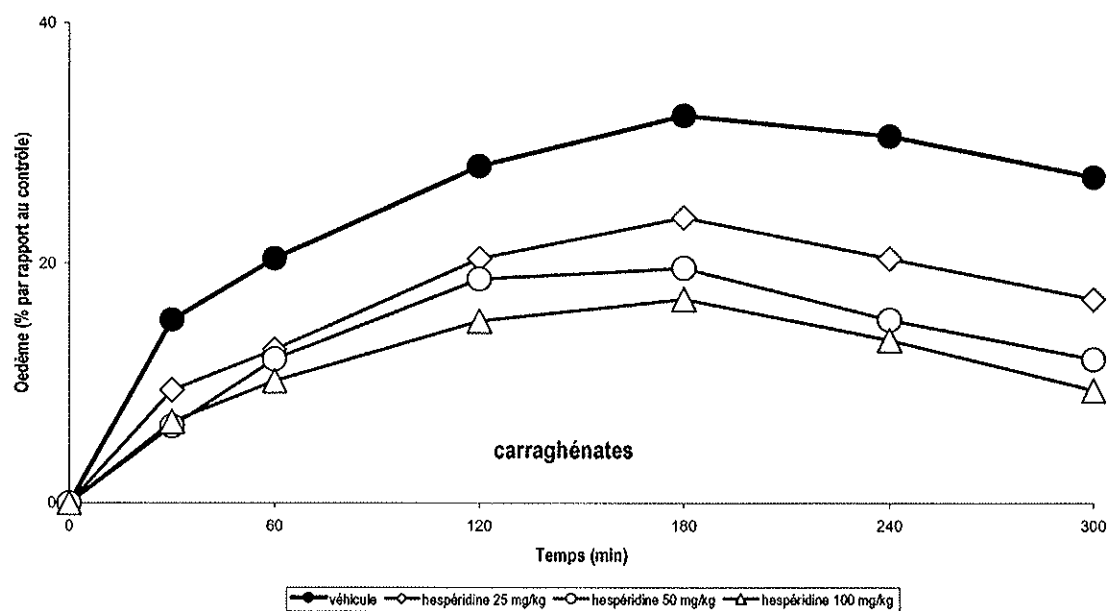


Figure 17 : effets du prétraitement avec le véhicule, l'hespéridine ou la diphenhydramine sur l'œdème de la patte des rats induit par les carraghénates ou les dextrans.

Modèle expérimental	Résultats obtenus
Pleurésie induite par les carraghénates	<ul style="list-style-type: none"> • Volume de l'exudat pleural recueilli chez les rats traités par le véhicule : $0,61 \pm 0,05$ ml. • Nombre de leucocytes migrants : $7,3 \pm 0,3 \cdot 10^3$ cellules/mm³. • Prétraitement par l'hespéridine à 100 mg/kg en SC : <ul style="list-style-type: none"> - diminution de l'exudat pleural : nouveau volume = $0,32 \pm 0,03$ ml. - diminution de la migration leucocytaire : $4,8 \pm 0,6 \cdot 10^3$ cellules/mm³. • Prétraitement par l'indométacine : les résultats sont similaires à ceux obtenus avec l'hespéridine. <ul style="list-style-type: none"> - diminution du volume pleural : nouveau volume = $0,31 \pm 0,5$ ml - diminution de la migration leucocytaire : $4,1 \pm 0,5 \cdot 10^3$ cellules/mm³.

• Analgésie.

Modèles expérimentaux	Résultats obtenus
Test du coup de queue	<ul style="list-style-type: none"> • Souris de contrôle : temps de latence du coup de queue = $1,5 \pm 0,1$ secondes. • Souris traitées par l'hespéridine à 100 mg/kg en SC : pas de changement du temps de latence par rapport au groupe de contrôle. • Souris traitées par le fentanyl : augmentation du temps de latence du coup de queue à $3,8 \pm 0,1$s (n=10).
Constrictions abdominales induites par l'acide acétique (1%)	<ul style="list-style-type: none"> • Prétraitement des souris par l'hespéridine à 100 mg/kg en SC : réduction de 50% du nombre de constrictions abdominales comptabilisées durant 30 minutes après l'injection d'acide acétique (de 47 ± 6 à 24 ± 4). • Prétraitement par l'indométacine : les effets sont similaires à l'hespéridine à 100 mg/kg en SC : nombre de constrictions abdominales = 25 ± 2 en 30 minutes.

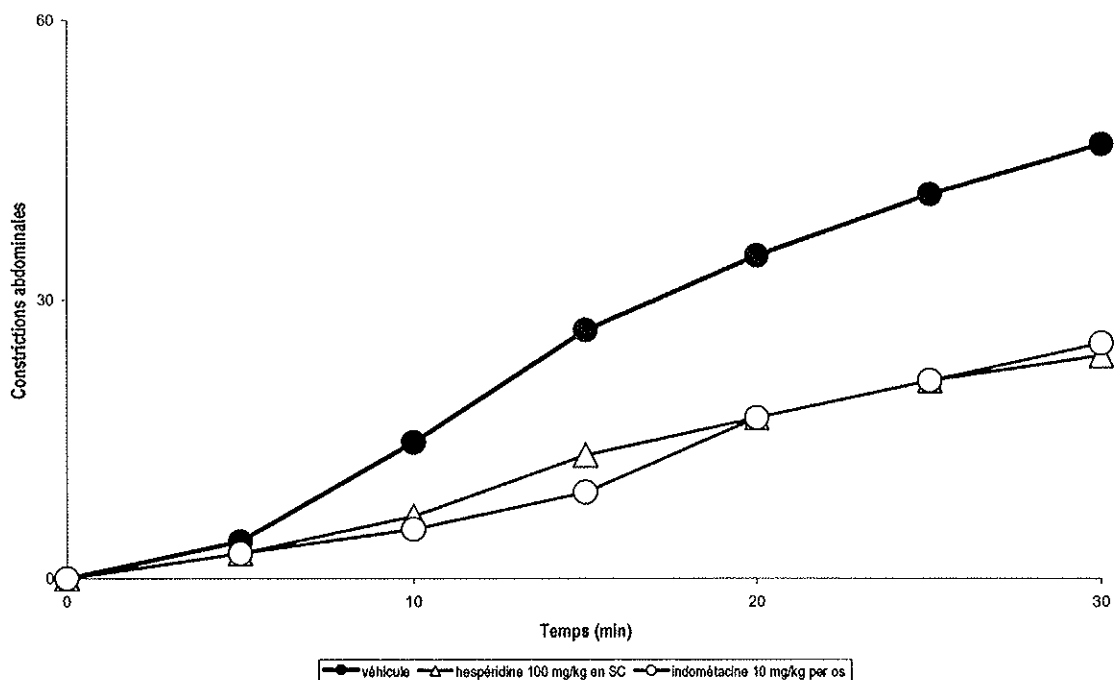


Figure 18 : constrictions abdominales induites par l'acide acétique 1% chez les souris prétraitées avec le véhicule, l'hespéridine ou l'indométacine.

• Antipyrétie.

Modèle expérimental	Résultats obtenus
Hyperthermie provoquée par l'administration de levures	<ul style="list-style-type: none"> • Température de base des rats non traités : $37,8 \pm 0,1^\circ\text{C}$ (n=15). • Température chez les rats non traités 18 heures après l'administration des levures : $38,9 \pm 0,04^\circ\text{C}$ (soit une augmentation de $1,11 \pm 0,04^\circ\text{C}$). • Température chez les rats traités par le véhicule : augmentation de $1,82 \pm 0,13^\circ\text{C}$ au dessus de la température de base. • Température chez les rats prétraités par l'hespéridine à 100 mg/kg : diminution de la température de $0,86 \pm 0,15^\circ\text{C}$ 4 heures après le prétraitement (n=5). • Température chez les rats prétraités par le dipyrone de sodium : restauration de la température de base 2 heures après le prétraitement.

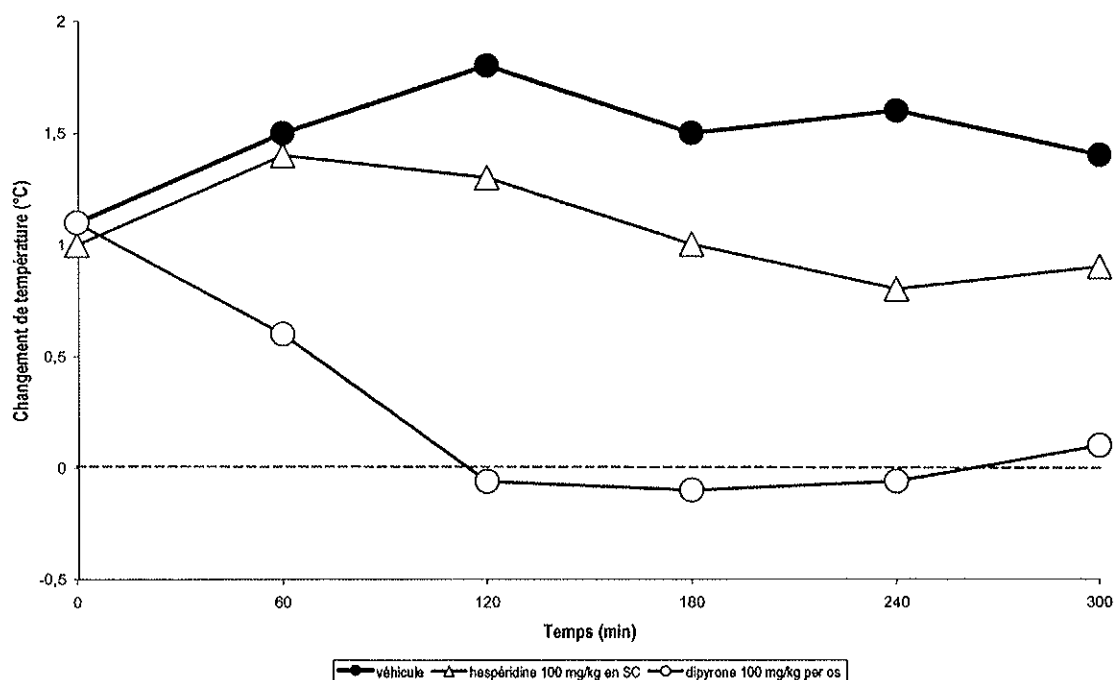


Figure 19 : effets du véhicule, de l'héspéridine et du dipyrone sur la fièvre induite par les levures.

• Activité ulcérogène.

Modèle expérimental	Résultats obtenus
Administration de l'héspéridine et de l'indométacine	<ul style="list-style-type: none"> Prétraitement par l'héspéridine à 100 mg/kg en SC : pas d'altération significative de la muqueuse gastrique 6 heures après le prétraitement. Prétraitement par l'indométacine : apparition de lésions ulcéreuses gastriques ($3,5 \pm 0,3$ ulcères/cm² ; n=5).

Traitement	Index d'ulcère	Nombre d'ulcères par cm ²
Véhicule	$2,80 \pm 0,12$	0
Héspéridine (100 mg/kg)	$3,00 \pm 0,15$	0
Indométacine (10 mg/kg)	$12,91 \pm 0,59$	$3,50 \pm 0,29$

Tableau 30 : degré d'irritation gastrique (index d'ulcère) et nombre d'ulcère par cm² sur la muqueuse gastrique des rats traité en SC avec le véhicule, l'héspéridine ou l'indométacine.

Nous pouvons noter que cette étude présente des données pharmacologiques favorisant un usage potentiel de l'héspéridine comme agent anti-inflammatoire. L'héspéridine entraîne des résultats similaires à l'indométacine sur la pleurésie et l'œdème de la patte induits par les carraghénates (aux doses de 50 et 100 mg/kg en SC). Ces données suggèrent que l'activité anti-inflammatoire de l'héspéridine peut être

partiellement rapportée à l'inhibition de la synthèse des prostaglandines (médiateurs libérés lors de la réaction inflammatoire).

L'héspéridine à 100 mg/kg en SC réduit également l'œdème de la patte induit par les dextrans indiquant ainsi que le flavonoïde peut inhiber la libération d'autres médiateurs de l'inflammation.

L'œdème de la patte provoqué par les dextrans est dû à la libération d'histamine endogène et de la 5-hydroxytryptamine. Or, il a été montré que l'aglycone de l'héspéridine (héspéritine) inhibait la libération de l'histamine des cellules basophiles. Ceci peut ainsi expliquer l'action anti-inflammatoire exercée par l'héspéridine sur l'œdème induit par les dextrans.

Enfin, l'inefficacité de l'héspéridine sur l'œdème de la patte induit par l'histamine exogène suggérerait qu'il n'y a pas de blocage des récepteurs à l'histamine exercé par le flavonoïde.

Cette molécule a aussi montré son activité analgésique chez les animaux, mise en évidence par le test des constriction abdominales.

L'héspéridine n'a pas eu d'impact sur le test du coup de queue dans la mesure où ce dernier est sélectif des composés opiacés chez quelques espèces animales.

Ainsi, ces résultats indiquent que l'héspéridine exerce un effet analgésique par les biais de mécanismes périphériques mais non centraux. Comme la constriction abdominale est due à la sensibilisation des récepteurs nociceptifs par les prostaglandines, les résultats obtenus renforcent les indications précédentes d'une probable inhibition des prostaglandines par le flavonoïde.

Dans les données antérieures, il a été constaté que l'héspéridine possédait également une activité antipyrétique chez le rat même si l'effet est moins prononcé que celui produit par le dipyrone de sodium.

Enfin, les tests sur l'héspéridine ont montré que cette molécule ne causait pas de préjudices à la muqueuse gastrique malgré une inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et donc de celles qui protègent normalement les tissus gastriques.

En conclusion, cette étude a montré une activité anti-inflammatoire de l'héspéridine sans induire d'effets secondaires dommageables pour la muqueuse gastrique. Cette molécule exerce également un effet analgésique par des mécanismes périphériques ainsi qu'une activité antipyrétique moyenne. Tous ces effets pourraient être liés à l'inhibition de la libération des prostaglandines et de l'histamine (Da Silva Emim J.A., et al.).

V.7. Conclusion.

Nous venons de voir qu'un certain nombre de propriétés biologiques de l'oranger amer ont fait l'objet d'études expérimentales.

Certaines de ces propriétés en particulier celles rattachées à la synéphrine ont pu dépasser le stade de l'expérimentation et être exploitées dans des formules de produits para-pharmaceutiques à effet amincissant.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'orange amère pourrait permettre une utilisation future dans le domaine de l'aromathérapie.

Cependant deux propriétés restent les plus exploitées chez l'oranger amer, ce sont les propriétés veinotonique-vasculoprotectrice (avec les médicaments utilisés notamment dans le traitement symptomatique de l'insuffisance veineuse) et sédative-anxiolytique (surtout en phytothérapie).

Quant aux propriétés antimutagène, anti-inflammatoire et analgésique de l'oranger amer elles restent pour l'instant du domaine de l'expérimentation. En effet, aucun médicament à base d'oranger amer ne possède une des trois propriétés citées ci-dessus.

Ces propriétés, étudiées expérimentalement et ayant montré des résultats positifs, sont donc porteuses d'espoir dans le domaine de la recherche sur l'oranger amer.

6^{ème} chapitre

**Les différents
domaines d'utilisation
de l'oranger amer et
de ses produits
d'extraction**

- Emplois : L'eau distillée de fleur d'oranger entre (ou entrain) dans la composition d'un certain nombre de préparations :
- le julep simple
 - le julep gommeux
 - le sirop de fleur d'oranger
 - le sirop d'espèces pectorales
 - le looch blanc
 - le looch huileux
 - le sirop de Desessartz (sirop d'ipécacuanha composé)
 - l'élixir de Garrus
 - le soluté de valérianate d'ammonium composé
 - les tablettes de bicarbonate de sodium
 - les tablettes de soufre

Remarque : le sirop de fleur d'oranger permet la préparation du sirop de bromure de calcium (Dorvault F - Giraud N.).

Quelques exemples de formules de préparations :

➤ Le sirop de fleur d'oranger.

- | | |
|------------------------------------|-------|
| - eau distillée de fleur d'oranger | 100 g |
| - sucre blanc | 180 g |

Dissoudre le sucre à froid dans l'eau distillée de fleur d'oranger. Filtrer. Le sirop obtenu est incolore, d'odeur et de saveur caractéristiques de fleur d'oranger. Il est utilisé comme sédatif léger et aromatisant.

➤ Le sirop d'espèces pectorales.

- | | |
|------------------------------------|--------|
| - fleurs pectorales | 10 g |
| - eau potable | 120 g |
| - eau distillée de fleur d'oranger | 5 g |
| - extrait d'opium | 0,03 g |
| - sucre blanc | qsp |

Le sirop obtenu est rouge-brunâtre d'odeur aromatique, de saveur douce et agréable. Il est utilisé comme béchique (qui agit contre la toux) et émollient (adouçissant).

➤ Le julep simple.

- | | |
|------------------------------------|------------|
| - sirop simple | 40 g |
| - eau distillée de fleur d'oranger | 20 g |
| - eau purifiée | qsp 150 ml |

Il se présente sous la forme d'un liquide limpide, blanc, d'odeur de fleur d'oranger et de saveur sucrée.

VI.1.1.2. Préparations obtenues à partir du fruit du bigaradier.

- La teinture d'écorce d'orange amère.

Composition : - zestes secs d'orange amère 200 g
- alcool à 80 pour cent V/V qsp

Fabrication : 1000 g de teinture se préparent par lixiviation des zestes grossièrement divisés avec de l'alcool à 80 pour cent V/V. La lixiviation consiste en l'extraction d'un composé soluble à partir d'un produit pulvérisé par des opérations de lavage et de percolation. Le liquide obtenu est brun-verdâtre, d'odeur caractéristique, de saveur amère et aromatique et donne un trouble net par addition de 1, 4 ou 9 volumes d'eau (Pharmacopée française 10^{ème} Edition).

Usages thérapeutiques : Cette teinture est traditionnellement utilisée comme eupeptique et tonique amer (remontant, stimulant) ainsi que pour ses propriétés apéritives (Girre L., 1995 - Schauenberg P.).

Emplois : On la retrouve dans la composition de l'ELIXIR GREZ* (Laboratoire *Monin Chanteaud*). Cette spécialité est employée dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (ballonnements épigastriques, lenteur digestive, éructation, flatulence) à la posologie de 30 gouttes avant les repas ou pendant les troubles chez l'adulte (Duriez F.). La teinture d'écorce d'orange amère constitue également le principe actif de la spécialité QUINTONINE* (*Glaxo Smith Kline*) utilisée dans l'asthénie fonctionnelle comme traitement d'appoint à la posologie de 1 cuillère à soupe midi et soir avant les repas, pure ou diluée dans une boisson.

Formule de la QUINTONINE* (par cuillère à soupe) :

- quinquina, teinture	177 mg
- orange amère, teinture	466,5 mg
- kola, teinture	273 mg
- cannelle, teinture	180,3 mg
- quassia de la Jamaïque, bois, extrait hydroalcoolique fluide	154,8 mg
- gentiane, racines, extrait hydroalcoolique fluide	202,5 mg

- Sirop d'écorce d'orange amère.

Composition : - zestes secs d'orange amère 100 g
- alcool à 60° 100 g
- eau distillée 1000 g
- sucre blanc qsp

Le sirop obtenu est jaune-brun d'odeur aromatique et de saveur amère.

Remarque : Il existe un extrait concentré pour sirop d'écorce d'orange amère (10 g d'extrait + 90 g de sirop simple = 100 g de sirop d'écorce d'orange amère)

Usages thérapeutiques : De même que la teinture d'orange amère, le sirop d'écorce d'orange amère est employé comme eupeptique et tonique amer, ainsi que comme antispasmodique (Girre L., 1995). Il peut également servir comme édulcorant pour masquer le goût de certains médicaments (Giraud N.).

Emplois : Ce sirop entre dans la composition de quelques préparations officinales et magistrales, le plus souvent comme excipient.

➤ Potion à la théophylline.

- théophylline	1,50 g
- benzoate de sodium	2 g
- sirop d'écorce d'orange amère	60 g
- eau purifiée	qsp
150 ml	

Cette potion, légèrement ambrée, d'odeur et de saveur d'orange amère, est employée principalement comme eupnéique (facilite la respiration) avec une posologie maximale de 5 cuillères à soupe par 24 heures chez l'adulte. L'emploi est déconseillé chez l'enfant.

➤ Potion au salicylate de sodium.

- salicylate de sodium	10 g
- carbonate monosodique	10 g
- sirop d'écorce d'orange amère	50 g
ou	
○ extrait pour sirop d'écorce d'orange amère	5 g
○ sirop simple	45 g
- eau	qsp 150 ml

Cette potion légèrement ambrée, d'odeur d'orange, de saveur sucrée-salée, est employée comme antirhumatismal à la posologie de 4 à 6 cuillères à soupe par 24 heures chez l'adulte et de 3 cuillères à café pour 10 kg de poids par 24 heures chez l'enfant.

➤ Sirop d'iodure de potassium.

- iodure de potassium	2,50 g
- sirop d'écorce d'orange amère	97,50 g
soit	
○ extrait pour sirop d'écorce d'orange amère	9,75 g
○ sirop simple	87,75g

Le sirop obtenu est jaune-brun, d'odeur d'orange amère et de saveur très amère.

Il est utilisé à la dose de 1 à 5 cuillères à soupe par 24 heures chez l'adulte.

➤ Sirop de bromure de potassium.

- bromure de potassium 5 g
- sirop d'écorce d'orange amère 95 g
- soit
 - extrait pour sirop d'écorce d'orange amère 9,5 g
 - sirop simple 85,5 g

Ce sirop est jaune-brun, d'odeur d'orange amère et de saveur amère.
Il est employé comme sédatif nerveux aux posologies suivantes :

- adulte : 2 à 3 cuillères à soupe par 24 heures.
- enfant : une cuillère à café par 10 kg de poids par 24 heures.

VI.1.2. L'allopathie.

VI.1.2.1. L'oranger amer utilisé comme aromatisant.

L'oranger amer ainsi que ses produits dérivés, du fait de leur saveur et odeur caractéristiques et prononcées, vont pouvoir servir à l'aromatisation d'un certain nombre de spécialités pharmaceutiques, qu'elles soient destinées à la voie orale, nasale, buccale ou cutanée.

Parmi les principes aromatisants, les plus souvent rencontrés sont :

- l'huile essentielle d'orange amère
- l'eau distillée de fleur d'oranger
- l'alcoolat d'orange amère
- l'huile essentielle de néroli

Voici une liste non exhaustive de spécialités pharmaceutiques aromatisées par l'une des substances citées ci-dessus :

Huile essentielle d'orange amère

ALVITYL*	<i>Solvay pharma</i>	Comprimé enrobé
CETOGLUTARAN*	<i>Tradiphar</i>	Ampoule buvable
CITRATE DE BETAINE*	<i>Dexo</i>	Ampoule buvable
DINACODE*	<i>Picot</i>	Sirop adulte et enfant
FRUCTINE*	<i>DB Pharma</i>	Comprimé à sucer
HEPANEPHROL*	<i>Laphal</i>	Solution buvable
HEPARGITOL*	<i>Elerté</i>	Poudre orale
HEXAPNEUMINE*	<i>Bouchara</i>	Sirop adulte, enfant, nourrisson
LUBENTYL* à la magnésie	<i>Sanofi-Synthelabo</i>	
NOOTROPYL*	<i>UCB</i>	Solution buvable
PHYTOCALM*	<i>UPSA</i>	Solution buvable
REVITALOSE*	<i>UCB</i>	Ampoule buvable
SARGENOR*	<i>Sarget Pharma</i>	Granulés effervescents Comprimés effervescents/à croquer

SOLUTRICINE* s/sucre VIT C	<i>Theraplix</i>	Comprimés
SURBRONC*	<i>Boehringer Ingelheim</i>	Solution buvable
TRIFLUCAN*	<i>Pfizer</i>	Poudre pour suspension buvable
TUSSISSEDAL*	<i>Elerté</i>	Sirop
ZYMA D2*	<i>Novartis</i>	Ampoule buvable, gouttes buvables

Huile essentielle de néroli

ACTISOUFRE*	<i>Grimberg</i>	Ampoules buvable et nasale
BALSAMORHINOL*	<i>Veyron et Froment</i>	Gouttes nasales
REPARIL*	<i>Tradipharm</i>	Gel

Eau distillée de fleur d'oranger

AFTAGEL*	<i>Cooper</i>	Gel buccal
BRONCHALENE*	<i>Martin Johnson et Johnson MSD</i>	Sirop enfant
TUSSIPAX*	<i>Bailleul</i>	Sirop
VEGETOSERUM*	<i>Alpharma</i>	Sirop enfant

Alcoolat d'orange amère

CHOPHYTOL*	<i>Rosa-phytopharma</i>	Solution buvable
CYCLO 3*	<i>Pierre Fabre</i>	Ampoule buvable
DIMETANE*	<i>Whitehall</i>	Sirop adulte

(Vidal 2003)

VI.1.2.2. L'oranger amer utilisé comme principe actif.

L'oranger amer en tant que tel n'entre pas comme principe actif dans la composition chimique de certains médicaments, mais ce sont ses produits d'extraction qui vont être à l'origine de l'action thérapeutique de certaines spécialités allopathiques. Parmi les plus abondamment utilisés dans l'industrie pharmaceutique, nous retrouvons les flavonoïdes avec notamment l'hésperidoside, la naringoside (le plus souvent administrés en mélange sous le nom de citroflavonoïdes), l'hésperidoside méthylchalcone (molécule obtenue par hémisynthèse), et la diosmine (produite par hémisynthèse).

L'oranger amer peut également être employé comme matière première pour l'extraction des pectines et être une source, mais mineure, d'acide ascorbique (vitamine C).

VI.1.2.2.1. Les flavonoïdes.

Comme nous l'avons vu précédemment dans le 5^{ème} chapitre, les flavonoïdes sont des facteurs vitaminiques P, à actions veinotonique et vasculoprotectrice. A ce titre donc, le bigaradier et les flavonoïdes font partie de certaines spécialités allopathiques (Girre L., 1995).

Cependant, malgré l'existence de tests biochimiques et des études de pharmacologie animale, l'efficacité clinique de ces flavonoïdes ainsi que des médicaments en contenant n'est pas correctement établie. Les essais chez l'homme (qui ne sont souvent que des observations) ne sont pas toujours conduits en conformité avec les normes en vigueur.

Seul un petit nombre de molécules pures ou d'extraits standardisés a pu faire la preuve d'une efficacité symptomatique modérée dans le traitement de l'insuffisance veineuse chronique des membres inférieurs. En France, une centaine de médicaments à base de flavonoïdes sont actuellement disponibles, alors que certains pays européens n'utilisent pas les veinotropes (Europe du Nord) ou de façon limitée (Royaume-Uni) du fait d'une démonstration d'activité insuffisante en phlébologie.

La plupart des spécialités allopathiques disponibles sur le marché possèdent les indications thérapeutiques suivantes :

- traitement (ou amélioration) des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolympatique (jambes lourdes, douleurs...),
- traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.

Quelques spécialités possèdent, en plus de celles déjà mentionnées, d'autres indications thérapeutiques :

- amélioration (ou traitement symptomatique) des troubles de la fragilité capillaire au niveau cutané (pétéchies); traitement d'appoint des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire,
- traitement des métrorragies lors de la contraception par microprogestatifs ou par port du stérilet après bilan étiologique,
- utilisé dans les baisses d'acuité et troubles du champ visuel présumés d'origine vasculaire,
- traitement du lymphoedème du membre supérieur après traitement radiochirurgical du cancer du sein.

Cependant, d'après les experts, les veinotropes n'ont aucun intérêt dans la prévention des troubles trophiques chez les personnes ayant des varices des membres inférieurs et dans la cicatrisation des ulcères de jambe. De plus, ils n'ont pas d'indication dans l'insuffisance veineuse en l'absence de symptomatologie (Bruneton J.).

➤ La naringine et l'hespéridine.

Ces deux composés faisant partie des citroflavonoïdes totaux sont des sous-produits issus de la fabrication des jus de fruits. Ils sont extraits par l'eau des péricarpes et des pulpes de fruits et sont isolés par différents procédés (notamment par passage à l'état de dérivés calciques ou magnésiens).

En thérapeutique, ils sont souvent employés en mélange. Les deux spécialités correspondantes sont CEMAFLAVONE* et VASCOCITROL*.

CEMAFLAVONE* La spécialité se présente sous la forme d'ampoules buvables (10 ml).
Bailleul

Formule (pour une ampoule buvable) :

- citroflavnoïdes 400 mg
- ascorbate de magnésium 384 mg
- soit en acide ascorbique 300 mg

Posologie : 2 ampoules/jour.

Elle est indiquée dans :

- les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolympatique,
- le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire,
- la baisse d'acuité et les troubles du champ visuel présumés d'origine vasculaire.

VASCOCITROL* Ce médicament se présente sous la forme d'ampoules buvables (5 ml) et son unique indication se retrouve dans les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolympatique (jambes lourdes, douleurs...)
Alpharma

Formule (pour une ampoule buvable) :

- citroflavonoïdes hydrosolubles 100 mg
- acide ascorbique 230 mg
- carbonate léger de magnésium 123 mg

Posologie : 2 à 3 ampoules/jour.

Parfois l'industrie pharmaceutique peut employer ces glycosides de flavanones purs.

CYCLOREL* Cette spécialité se présente sous la forme de gélules et est utilisée dans le traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolympatique et dans le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.
Alpharma

Formule (pour une gélule) :

- naringine sodique 50 mg

Posologie : 3 à 6 gélules/jour au cours des repas.

Deux autres spécialités contiennent également un seul glycoside de flavanone mais associé à une autre molécule : il s'agit de DAFLON 375 mg* contenant 150 mg

d'hespéridine par comprimé enrobé et de DAFLON 500 mg* dosé à 50 mg d'hespéridine par comprimé pelliculé.

Le contenu de ces deux spécialités sera revu ultérieurement (Bruneton J. - Vidal 2003).

➤ L'hespéridine méthylchalcone.

En pharmacie l'hespéridine est peu utilisée en l'état, du fait de sa faible solubilité dans l'eau. Elle sera donc transformée en un dérivé hémisynthétique : l'hespéridine méthylchalcone dont l'ouverture de l'hétérocycle pyranique augmente sensiblement la solubilité.

Ce dérivé hémisynthétique se retrouve dans la composition chimique de quelques spécialités pharmaceutiques :

CIRKAN*
Pierre Fabre

Ce médicament se présente sous la forme de comprimés pelliculés.

Formule (pour un comprimé pelliculé) :

- petit houx extrait hydroalcoolique sec 40 mg
- hespéridine méthylchalcone 100 mg
- acide ascorbique 200 mg

Posologie : 2 cp matin et soir au cours des repas.

CYCLO 3 FORT*
Pierre Fabre

Ce médicament existe sous forme de gélules et d'ampoules buvables.

Formule (pour une gélule) :

- *Ruscus aculeatus*, extrait titré à 22% d'hétérosides stéroliques 150 mg
- hespéridine méthylchalcone 150 mg
- acide ascorbique 100 mg

Formule (pour une ampoule buvable) :

- extrait fluide de *Ruscus aculeatus* titré à 2% en hétérosides stéroliques totaux 1,5 ml
- hespéridine méthylchalcone 100 mg
- acide ascorbique 100 mg

Posologie :

Insuffisance veineuse : 2 à 3 gélules (ou ampoules) par jour.

Proctologie : 4 à 5 gélules (ou ampoules) par jour.

Ces deux spécialités allopathiques possèdent les mêmes indications thérapeutiques ; elles sont utilisées dans :

- le traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolympatique,
- le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.

Un troisième médicament contient de l'héspéridine méthylchalcone ; il s'agit du GEL A L'ACETOTARTRATE D'ALUMINE DEFRESNE* (*Sanofi-synthelabo*) :

Formule (pour un tube) :

- hespéridine méthylchalcone 0,54 g
- aluminium acétotartrate 1,8 g

Posologie : 2 à 3 applications/jour sur les zones à traiter.

Indications :

- traitement d'appoint des manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veineuse chronique,
- traitement local d'appoint de la douleur en traumatologie bénigne.

(Giraud N. - Vidal 2003)

➤ La diosmine.

Il s'agit d'un glycoside de flavone que l'on peut retrouver dans les péricarpes d'orange amère. Mais le plus souvent, cette molécule est obtenue par hémisynthèse (Bruneton J.).

La diosmine appartient à la classe des veinotropes, vasculoprotecteurs et veinotoniques. Elle augmente donc la résistance des vaisseaux et diminue leur perméabilité. Elle entraîne aussi une vasoconstriction.

Cette molécule chimique a fait l'objet de nombreux travaux pharmacologiques confirmant ainsi qu'elle accroît la tonicité pariétale des veines et donc qu'elle améliore l'hémodynamique veineuse. Les études cliniques chez l'homme ont pu confirmer ses propriétés anti-oedémateuses et son action tonique au niveau des veines et des capillaires (Vidal 2003).

La diosmine se retrouve en tant que principe actif dans un certain nombre de spécialités pharmaceutiques.

Pour deux spécialités, la diosmine est en association avec un glycoside de flavanone (l'héspéridine) :

DAFLON	<u>Formule (pour un comprimé enrobé) :</u>	
375 mg*	Flavonoïdes extraits de Rutacées	375 mg soit :
<i>Servier</i>	- diosmine	150 mg
	- hespéridine	150 mg

Cette spécialité est indiquée dans :

- les manifestations fonctionnelles de l'insuffisance veinolymphatique,
- le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire,
- la baisse d'acuité et les troubles du champ visuel présumés d'origine vasculaire,

- le traitement symptomatique des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire,
- les métrorragies induites par le port de dispositif intra-utérin après bilan étiologique.

Posologie :

Crise hémorroïdaire : 8 à 12 cp/jour.

Dans les autres cas : 2 cp midi et soir au cours des repas.

DAFLON
500 mg*
Servier

Formule (pour un comprimé pelliculé) :

Flavonoïdes extraits de Rutacées	500 mg soit :
- diosmine	450 mg
- hespéridine	50 mg

Cette spécialité, quant à elle, est indiquée dans :

- le traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolymphatique,
- le traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.

Posologie :

Crise hémorroïdaire : 6 cp/jour les 4 premiers jours puis 4 cp/jour les 3 jours suivants.

Dans les autres cas : 1 cp midi et soir pendant les repas.

Pour les autres spécialités, la diosmine constitue le seul principe actif :

Spécialités	Laboratoire	Dosage (mg)	Forme galénique	Indications thérapeutiques
DIO*	Sciencex	300	Comprimé (Cp)	- amélioration des symptômes en rapport avec l'insuffisance veinolymphatique (jambes lourdes, douleurs)
DIOSMIL GE*	Cooper	300	Cp pelliculé	
DIOVENOR*	Innothera	600	Cp pelliculé Poudre pour suspension buvable	- traitement d'appoint des troubles fonctionnels de la fragilité capillaire
ENDIUM GE*	Dexo	300	Cp pelliculé/Poudre	
ENDIUM*		600	Cp pelliculé	
FLEBOSMIL GE*	Socopharm	300	Cp/Poudre	posologie : 600 mg /jour en une ou deux prises au cours des repas (soit 1 cp à 600 mg ou 2 cp à 300 mg)
FLEBOSMIL GE*		600	Cp pelliculé	
MÉDIVEINE GE*	Elerté	300	Cp	- traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire
MÉDIVEINE GE*		600	Cp sécable/Poudre	
VEINEVA GE*	CCD	600	Cp	posologie : 1,2 à 1,8 g par jour
VENIRENE GE*	Irex	300/600	Cp pelliculé	

(Vidal 2003)

Tableau 31 : quelques spécialités médicamenteuses ayant comme seul principe actif la diosmine.

VI.1.2.2.2. Divers produits d'extraction.

A titre indicatif, nous pouvons citer la présence d'acide ascorbique (vitamine C) dans l'oranger amer.

Cependant, il est à noter que cette espèce végétale ne constitue pas la source principale d'acide ascorbique malgré la présence d'une forte teneur chez les Rutacées, en général.

C'est pourquoi, nous ne pouvons pas considérer cette molécule chimique comme étant spécifique du bigaradier.

En outre, nous pouvons mentionner l'existence de pectines dans l'écorce des fruits. Ces pectines trouvent des applications nombreuses, non seulement dans l'alimentation (confiture) mais dans la pharmacie et dans des industries très diverses. Ainsi, les écorces d'agrumes en constituent l'une des sources importantes. Elles sont traitées sur place ou envoyées sous forme desséchée dans des usines spéciales qui traitent parfois de produits voisins (algues, alginate).

L'opération consiste à extraire des écorces humides, par l'emploi de presses continues, un liquide contenant 15% d'extrait sec constitué pour la moitié de sucre. Il est d'abord épuré et neutralisé puis filtré. La pectine est ensuite précipitée dans la solution soit au moyen d'un alcool (éthanol, méthanol, isopropanol, etc...) soit par addition d'un sel métallique. Le précipité obtenu est séparé, épuré et finalement transformé par voie chimique en produits généralement desséchés, de « grades » différents, c'est-à-dire dont la déméthoxylation est plus ou moins complète et qui offrent à l'utilisateur une prise plus ou moins rapide (Praloran J.C.).

Ces pectines sont utilisées comme hémostatique, dans la préparation de suspensions médicamenteuses ainsi que comme substances retard (Girre L., 1997).

Pour conclure, malgré l'existence d'un certain nombre d'études cliniques sur l'oranger amer et la reconnaissance de certaines propriétés pharmacologiques démontrées chez l'animal, nous pouvons nous rendre compte que son domaine d'application en allopathie en tant que principe actif est peu étendu.

En effet, seuls les citroflavonoïdes (naringine et hespéridine) et quelques molécules d'hémisynthèse possèdent quelques indications reconnues pour les formes fortement dosées (diosmine : 300/600 mg). L'efficacité de ces formes est significativement (mais légèrement) supérieure à celle d'un placebo, même si dans le traitement des symptômes liés à l'insuffisance veino-lymphatique, 50% des patients sont soulagés par un placebo et par l'application de mesures d'hygiène (Bruneton J.).

VI.1.3. La phytothérapie.

En phytothérapie, les trois parties botaniques de l'oranger amer sont employées, la fleur sous forme de boutons floraux, les feuilles et l'écorce du fruit (ou zeste), avec une vente importante en officine pour les feuilles, moins conséquente pour l'écorce et encore plus faible pour la fleur (Bezanger-Beauquesne L., et al, 1986).

Les feuilles et les boutons floraux sont principalement utilisés sous forme de tisanes en infusion alors que l'écorce entre davantage dans la préparation de vins, liqueurs, sirops ou teintures (Michel P.). L'écorce peut néanmoins être employée sous forme de tisanes en infusion au même titre que les fleurs et les feuilles du bigaradier.

VI.1.3.1. Les boutons floraux.

La tisane de fleurs est obtenue par infusion. Ce procédé d'obtention de la tisane est le plus souvent requis pour des drogues à HE, comme c'est le cas ici.

L'infusion consiste à verser sur la drogue de l'eau potable bouillante et à laisser ensuite refroidir la préparation. La Pharmacopée indique une durée d'infusion de 15 minutes pour une concentration de 20 g/l et une dose quotidienne de 250 à 500 ml (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

Les fleurs de bigaradier possèdent des propriétés antispasmodiques et sédatives mineures (Boullard B., 2001). A ce titre, elles sont traditionnellement utilisées pour calmer les insomnies, spasmes nerveux, crampes d'estomac, palpitations, toux nerveuses (Girre L., 1992).

Des propriétés sudorifiques et fébrifuges leur sont également reconnues (Michel P.).

Ces fleurs sont utilisées seules ou bien associées à d'autres drogues végétales. Dans ce cas, elles entrent dans la formule de tisanes composées.

Exemples de formules de tisanes composées :

Tisane 1		
Aubépine	Sommités fleuries	à 25 g
Ballote fétide	Sommités fleuries	
Coquelicot	Pétales	
Passiflore	Plante entière	
Saule blanc	Ecorce	
Oranger amer	Fleurs ou feuilles	
<i>Faire infuser pendant 10 minutes 5 g de ce mélange dans 250 ml d'eau et boire une tasse le soir au coucher.</i>		
<i>Dans cette formule, les fleurs d'oranger amer, outre leur action antispasmodique et sédative, servent à améliorer le goût de la préparation.</i>		

Tisane 2		
Aubépine	Sommités fleuries	30 g
Coquelicot	Pétales	10 g
Houblon	Cônes	10 g
Marjolaine	Feuilles et sommités fleuries	10 g
Mélicot	Sommités fleuries	10 g
Passiflore	Plante entière	30 g
Tilleul	Fleurs et bractées	30 g
Oranger amer	Fleurs et feuilles	20 g
<i>Faire infuser 5 g de ce mélange pendant 10 minutes dans 250 ml d'eau et boire une tasse le soir au coucher.</i>		

(Girre L., 1992)

Tisane 3		
Oranger amer	<i>Fleurs</i>	20 g
Lavande	<i>Fleurs</i>	20 g
Aubépine	<i>Sommités fleuries</i>	30 g
Réglisse	<i>Racine</i>	30 g

(Schauenberg P.)

Ces trois formules de tisanes composées sont employées contre l'insomnie.

Tisane 4		
Olivier	<i>Feuilles</i>	20 g
Aubépine	<i>Sommités fleuries</i>	30 g
Prêle	<i>Plante entière</i>	30 g
Oranger amer	<i>Fleurs</i>	20 g

Cette formule de tisane est utilisée en cas d'hypertension artérielle. Bien entendu, il ne peut s'agir que d'un traitement adjuvant (Schauenberg P.).

Remarque : au Maroc, les fleurs sont associées au carvi et données en infusion aux adultes souffrant d'aérophagie (Bellakhdar J.).

VI.1.3.2. Les feuilles.

Comme pour les fleurs de l'oranger amer, la tisane de feuilles est obtenue par une infusion de 15 minutes à une concentration de 20 g/l et pour une dose journalière de 250 à 500 ml (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

Les feuilles de bigaradier sont reconnues pour posséder des propriétés sédatives, stomachiques (Girre L., 1997), fébrifuges et sudorifique (Poletti A.) . Elles sont à ce titre, traditionnellement utilisées pour calmer les spasmes nerveux, les toux quinteuses, les palpitations, les céphalgies, les insomnies (Poletti A.).

Les feuilles de bigaradier peuvent être incluses dans la formule de tisanes composées.

Exemple de formules de tisanes composées :

Médiflor n°14		
<i>Composition pour 100 g :</i>		
Valériane	<i>Racines</i>	20 g
Passiflore	<i>Parties aériennes</i>	20 g
Aubépine	<i>Sommités fleuries</i>	15 g
Mélisse	<i>Feuilles</i>	10 g
Tilleul	<i>Fleurs</i>	10 g
Bigaradier	<i>Feuilles</i>	25 g

Cette tisane est une spécialité pharmaceutique. Elle est conditionnée en vrac par boîte de 100 g ou unitairement par boîte de 24 sachets. La posologie recommandée est de 1 à 2 cuillères à café ou 1 sachet par tasse d'eau bouillante en buvant 3 à 5 tasses par jour ou bien 1 tasse le soir et une autre au coucher. Cette tisane est utilisée dans le traitement de l'anxiété et des troubles du sommeil (Chevallier L., et al.).

Espèce antispasmodique	
Valériane	90 g
Feuilles d'oranger amer	60 g
Millefeuille	30 g

(Valnet J.)

Outre la tisane qui est la forme la plus fréquemment utilisée en phytothérapie pour les feuilles, celles-ci peuvent être aussi utilisées sous forme de solution buvable.

Exemple de solution buvable : NATURA MEDICA BIGARADIER* (*Dolisos*) solution buvable de 20 ampoules.

Composition par ampoule : bigaradier (feuilles) : 500 mg

Cette spécialité pharmaceutique est indiquée dans le traitement de l'anxiété et des troubles du sommeil à la posologie adulte de 1 ampoule 2 fois par jour (Chevallier L., et al.).

VI.1.3.3. Ecorce des fruits.

VI.1.3.3.1. Emploi sous forme de tisane.

La tisane d'écorce de fruit du bigaradier est obtenue par infusion de la drogue végétale pendant 15 min à la concentration de 10 g/l. La Pharmacopée française recommande une dose quotidienne de 250 à 500 ml (Pharmacopée française 10^{ème} édition).

Cette écorce possède des propriétés stomachiques, toniques, amères et apéritives (Boullard B., 2001). Elle est ainsi traditionnellement utilisée pour stimuler l'appétit et faciliter la prise de poids (Wichlt M., et al.). Elle peut également être employée pour apaiser des affections nerveuses ou coliques (Boullard B., 2001). Cependant l'infusion d'écorces d'orange amère est peu employée. Au Maroc, par exemple, l'écorce est utilisée sous forme de décoction ou en poudre pour soulager les coliques (Bellakhdar J.).

VI.1.3.3.2. Spécialités pharmaceutiques.

Trois spécialités sous forme de solution buvable renferment de l'écorce d'orange amère :

○ ELIXIR BONJEAN* (<i>Dexo</i>)	(250 ml)
<i>Composition par cuillère à soupe</i>	
Mélicse	(<i>feuilles</i>) 600 mg
Orange amère	(<i>écorces</i>) 600 mg
Anis vert	(<i>fruits</i>) 600 mg
Cumin	(<i>fruits</i>) 600 mg
Cachou	(<i>extrait du bois d'acacia catechu</i>) 600 mg
Menthe	(<i>feuilles</i>) 3 mg

L'ELIXIR BONJEAN* est utilisé en phytothérapie dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (tels que digestion difficile, indigestions, désordres gastriques et intestinaux). La posologie recommandée est de une cuillère à soupe après les principaux repas chez l'adulte. Chez l'enfant ce médicament est contre-indiqué à cause de la présence d'alcool (Chevallier L., et al.).

○ GASTROPHYLE* (<i>Picot</i>)	(90 ml)
<i>Composition pour 100 ml</i>	
Origan	(<i>plante entière</i>) 4 g
Mélicse	(<i>plante entière</i>) 4 g
Badiane	(<i>fruits</i>) 3 g
Angélique	(<i>racines</i>) 3 g
Orange amère	(<i>écorces</i>) 2,5 g
Menthe poivrée	(<i>feuilles</i>) 0,04 g

La spécialité GASTROPHYLE* est employée en phytothérapie dans le traitement symptomatique des troubles digestifs à la dose de 1 cuillère à café 3 fois par jour avant les repas. Ce médicament est contre-indiqué chez l'enfant (présence d'alcool), en cas d'obstruction des voies biliaires et d'insuffisance hépato-cellulaire grave (Chevallier L., et al).

○ ELIXIR GREZ* (<i>Monin Chanteaud</i>)	(30 ml)
<i>Formule pour 30 gouttes</i>	
Orange amère, teinture	127 mg
Gentiane, teinture de racines	127 mg
Cannelle, teinture	32 mg
Acide citrique	32 mg
Alcool	310 mg

Cette spécialité est employée dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (ballonnements épigastriques, lenteur digestive, éructations, flatulences). La posologie recommandée est de 30 gouttes avant ou pendant les troubles chez l'adulte (Duriez F.).

VI.1.3.3.3. Produits para-pharmaceutiques.

○ ARKOGELULES *CITRUS AURANTIUM** (Arkopharma)

Ce produit se présente sous la forme de gélules et est utilisé pour son action amincissante due à la synéphrine à la posologie adulte de 2 gélules le matin et le midi 30 minutes avant chaque repas.

○ 4, 3, 2,1 MINCEUR* (Arkopharma)

Ce produit à visée amincissante est constitué de 10 plantes dont un extrait d'écorce de *Citrus aurantium*. Sa présence dans la solution favorise le déstockage des graisses. Ce produit a pour but de brûler les calories, drainer l'eau et les toxines, purifier et tonifier l'organisme.

La dose quotidienne doit être diluée dans 1 litre d'eau et les prises doivent être réparties tout au long de la journée.

Cure d'attaque :

- 4 bouchons doseurs par jour pendant 4 jours,
- 3 bouchons doseurs par jour pendant 3 jours,
- 2 bouchons doseurs par jour pendant 2 jours,
- 1 bouchon doseur le dernier jour.

Cure de stabilisation :

- 2 bouchons doseurs par jour pendant 15 jours.

Remarque : Ce produit doit être utilisé en complément d'une alimentation où l'apport calorique total est contrôlé.

○ XENADRINE* (Forte pharma)

Ce produit se présente sous conditionnement de 90 comprimés dosés chacun à 250 mg d'extrait d'écorce de *Citrus aurantium*. Cet extrait est associé au guarana (12% de caféine). XENADRINE* est utilisée pour son action amincissante.

Remarques :

- Concernant les graines (pépins) d'orange amère, leur utilisation est très rare. Cependant nous pouvons mentionner que les pépins d'orange amère séchés, moulus, donnent une tisane purgative (Valnet J.). Ils peuvent également s'avérer efficaces contre l'asthme (Boullard B., 2001).
- Il existerait un usage vétérinaire de l'orange amère. Ainsi la tisane de racines serait employée par les populations gitanes pour vermifuger les jeunes chiens, chevaux et autres animaux domestiques (Valnet J.).

VI.1.4. L'aromathérapie.

VI.1.4.1. Définition : qu'est-ce que l'aromathérapie ?

Ce terme désigne une pratique de soins particulière que l'on pourrait qualifier de médecine complémentaire. C'est au grec que le mot aromathérapie emprunte son étymologie : « *therapeia* » signifie soin, cure, et « *aroma* » épice, parfum. Elle est donc l'art de soigner par les odeurs. Elle utilise les huiles essentielles de plantes dans un but thérapeutique.

L'utilisation des huiles essentielles et des parfums remonte à des temps très anciens puisqu'au début de l'humanité il est rapporté que les fumigations étaient utilisées lors de rituels ou de cérémonies religieuses afin d'honorer les divinités présentes.

Le parfum, était, en ces temps, considéré comme la manifestation du divin sur terre.

Ainsi la médecine aromatique a pris sa source il y a plus de 6000 ans en Egypte, lieu de naissance de la médecine, de la parfumerie et de la pharmacie occidentale. Les Egyptiens, soucieux de leur santé et de l'hygiène, avaient une excellente connaissance des propriétés des parfums et des substances aromatiques ainsi que de leurs effets sur le corps et l'esprit. Aussi de nombreuses préparations étaient-elles aussi bien employées pour leurs qualités olfactives que pour leur pouvoir de guérison. A cette époque, la principale utilisation des huiles essentielles était l'embaumement des corps. Cette pratique permit de conserver les tissus humains des milliers d'années.

L'usage des aromates s'est alors étendu de l'Egypte à l'Israël, la Grèce, la Rome et au monde méditerranéen. L'Inde est peut-être le seul pays au monde où, de nos jours, la tradition perdure.

Avec plus de 10000 ans de pratiques ininterrompues, la médecine ayurvédique est la plus ancienne forme de pratique médicale connue de l'homme. Les Veda, livres les plus sacrés de l'Inde, comptant parmi les plus anciens connus, répertorient plus de 700 épices différentes (cannelle, gingembre, coriandre...). Ces livres codifient l'utilisation des parfums et des aromates à des fins liturgiques et thérapeutiques.

En Europe les Croisés, au retour de la Terre Sainte, introduisirent l'alchimie et rétablirent l'utilisation des aromates en médecine et en parfumerie, alors tombée en désuétude.

Grâce à leur pouvoir antibiotique les huiles essentielles sont demeurées des siècles durant la seule médecine en période d'épidémie.

Pendant la Renaissance l'utilisation de ces huiles essentielles s'étendit aux domaines de la parfumerie et des cosmétiques.

L'aromathérapie moderne est née au début des années 1900 grâce au français R.M. Gatefossé et son expansion ne débuta réellement qu'en 1964 avec les publications de J. Valnet (Abrassart J.L.).

VI.1.4.2. Les huiles essentielles du bigaradier en aromathérapie.

VI.1.4.2.1. HE de néroli.

➤ Propriétés.

L'HE de néroli diminue l'amplitude des contractions cardiaques et musculaires ; elle est sédatrice (en exerçant un effet calmant, relaxant et euphorisant (Werner M.)), antispasmodique et anti-dépressive (Abrassart J.L.). Elle possède également un pouvoir bactéricide et une action infertilisante.

- Le pouvoir bactéricide est dû à la présence des composés terpéniques et phénoliques ainsi qu'à celle des alcools et des aldéhydes. Il existe une relation entre le pouvoir bactéricide de l'HE et ses fonctions chimiques représentées. Par ordre d'activité décroissante concernant le pouvoir bactéricide on note les phénols, les aldéhydes, les alcools, les éthers et les acides. En ce qui concerne l'activité des terpènes les avis divergent.

- On dit d'une HE qu'elle possède une action infertilisante lorsqu'elle entrave le développement des cultures microbiennes. Il a été montré que le pouvoir infertilisant de l'HE de néroli est plus important que celui du phénol (Valnet J.).

➤ Indications thérapeutiques.

L'HE de néroli est principalement indiquée dans le traitement des insomnies, des crises d'anxiété et d'hystérie, lors des manifestations du trac, en cas de diarrhées déclenchées par une situation anxiogène mais elle est également indiquée lors de l'apparition de spasmes cardiaques, palpitations, crampes, contractures musculaires. Elle stimule l'appétit et facilite la digestion. Et enfin elle est bénéfique dans les soins de peaux fatiguées ou sensibles (Abrassart J.L. - Valnet J.) .

➤ Utilisations (Maxwell-Hudson C.).

En aromathérapie, l'HE de néroli s'utilise en massage (doux ou tonique, lent ou rythmé) d'une partie du corps ou du corps entier (8 gouttes mélangées à 20 ml d'huile support) ou bien dans l'eau d'un bain (5 gouttes).

Il est possible également d'en verser quelques gouttes (2 à 4) sur un mouchoir ou un oreiller ou de brûler 4 gouttes dans un brûle-parfum.

L'HE de néroli bigarade peut être combinée à d'autres HE. Ainsi le benjoin et l'oliban accentuent sa senteur et la lavande en renforce les vertus sédatives.

VI.1.4.2.2. L'HE de petitgrain.

➤ Propriétés.

L'HE de petitgrain est un stimulant du système nerveux central et agit sur la sphère digestive comme stomachique, apéritif et tonique. Elle peut également être

utilisée pour ses propriétés relaxante, rafraîchissante et déodorante. (Abrassart J.L. - Poletti A.).

➤ Indications thérapeutiques.

De par les propriétés qui lui sont conférées, l'HE de petitgrain peut être employée en cas de digestion difficile, d'insomnie, d'anxiété, de maux de tête, de nausées, de transpiration excessive, pour des soins de la peau (acné) et des cheveux gras et fragiles, pour stimuler la mémoire (Abrassart J.L.).

➤ Utilisations (Maxwell-Hudson C.).

La principale voie d'utilisation de l'HE de petitgrain est la voie cutanée sachant que l'emploi de la voie interne est possible mais rare. Elle s'utilise de la même manière que l'HE de néroli. Certaines autres HE peuvent également lui être associées : le géranium exalte l'arôme du petitgrain, le romarin lui ajoute une touche de finesse et la sauge renforce ses vertus sédatives. Il est à noter que les massages sont déconseillés en cas de nausées. On y remédie en versant quelques gouttes d'HE sur un mouchoir que l'on respire.

VI.1.4.2.3. L'HE d'orange amère.

➤ Propriétés.

L'HE d'orange amère agit sur l'appareil digestif grâce à ses propriétés stomachique, antispasmodique et digestive. Elle possède également une action fébrifuge, hypotensive et sédative. De même, elle peut être utilisée pour son action légèrement astringente (Abrassart J.L. - Maxwell-Hudson C.).

➤ Indications thérapeutiques.

Son action sur l'appareil digestif permet de traiter les indigestions, dyspepsies, flatulences, soulager les spasmes gastriques et les aigreurs d'estomac. En massage cette HE permet d'améliorer le transit intestinal. Elle peut être aussi utilisée en cas de fièvre, troubles nerveux, nausées, palpitations cardiaques. Enfin elle est indiquée dans les soins des peaux grasses et épaisses et aide à lutter contre la rétention d'eau et la cellulite (Abrassart J.L. - Maxwell-Hudson C.).

➤ Utilisations (Maxwell-Hudson C.).

L'HE d'orange amère s'utilise de manière identique aux deux HE précédentes.

Cette HE peut également être combinée à d'autres HE comme l'oliban et le genièvre qui l'épicent ou le cyprès qui lui apporte sa fraîcheur.

VI.1.4.3. Conclusion.

Pour conclure nous pouvons noter que les trois HE extraites du bigaradier possèdent des propriétés communes en agissant principalement sur le système nerveux central et l'appareil digestif. Secondairement elles peuvent traiter certaines douleurs ou quelques problèmes dermatologiques.

La première voie d'utilisation de ces HE est la voie cutanée par la pratique du massage ou du bain (l'usage de ces HE dans un bain se situe à la limite entre les domaines de la pharmacie et de l'hygiène).

Lors de leur utilisation par voie cutanée, ces HE doivent être préalablement diluées dans un véhicule approprié (on parle d'huile support comme par exemple les huiles d'amande douce, d'avocat ou de jojoba) afin d'éviter une éventuelle agression de la peau. Il est à noter que la pratique du massage est déconseillée pendant le premier trimestre de la grossesse.

L'utilisation de ces HE est possible par voie orale mais elle reste plus rare. Enfin, il est à préciser que ces trois HE sont photosensibles, il est donc recommandé de ne pas s'exposer au soleil dans les six heures suivant l'application de l'HE (Bruneton J. - Maxwell-Hudson C.).

VI.2. Les domaines de la parfumerie et de la cosmétologie.

Dans ces domaines, il s'agit principalement des trois HE du bigaradier et de l'eau de fleur d'oranger. Les HE sont surtout utilisées pour les propriétés olfactives qu'elles confèrent aux parfums et pour leur pouvoir de fixation des molécules odoriférantes.

Notes hespéridée, fraîche, senteurs florale, citronnée, arômes suave, sucré, âpre, léger : la variété des odeurs offre ainsi un vaste choix aux parfumeurs.

VI.2.1. L'HE de néroli bigarade.

Bien qu'utilisée avant la Seconde Guerre Mondiale comme nouveau parfum sans alcool, l'HE de néroli n'est pas devenue populaire en tant que telle. En fait, cette HE est déjà depuis trois siècles employée principalement dans l'industrie du parfum de luxe ; son prix de revient restant très élevé : 1800 € le kg (Anonis D.P. - Valnet J.).

Ainsi parmi les parfums qui contiennent de l'HE de néroli bigarade, nous pouvons citer :

- Chanel n°5 et Coco de *Chanel*
- Miss Dior de *Dior*
- Infini de *Caro*
- Byzance de *Rochas*
- Scandal de *Jeanne Lanvin*
- Bal à Versailles et Heure bleue de *Guerlain*
- Eau de Givenchy de *Givenchy*
- Eau de Bulgari de *Bulgari*
- Eau d'orange verte de *Hermès*
- Et tant d'autres...Arpège, Fleurs de rocaille, Fougère, Cuir de Russie, Vol de nuit, Fleur de tabac, Cachemir, Origan, Fidji...

(Anonis D.P. - Gontier J.).

Cette HE est aussi bien utilisée dans les parfums pour femmes que pour hommes où nous la retrouvons dans les parfums ayant une note boisée.

L'HE de néroli est également employée dans la classique eau de Cologne (Eau de Cologne de *Hermès*, Eau Sauvage de *Dior*, 4711 de *Mulhens* dont la formule reste inchangée depuis 1763 (Werner M.)). La lotion du Portugal, une eau de Cologne moins récente mais qui fut populaire était constituée d'HE de néroli ; les terpènes y étaient quasi inexistantes et elle ne contenait ni lavande, ni romarin. Dans l'eau de Cologne, l'HE de néroli agit comme fixateur pour la bergamote, et elle est aussi employée dans la fabrication des meilleurs savons de Cologne.

De par le fait que l'HE de néroli possède des composés chimiques communs à un certain nombre d'espèces végétales, elle va être utilisée dans la conception des compositions florales et non florales suivantes : acacia, œillet, jasmin, cyclamen, fougère, magnolia, jacinthe, lilas, narcisse, gardénia, chèvrefeuille, jonquille, muguet, pois de senteur, foin fauché, lavande.

Enfin, l'HE de néroli peut être employée comme composant chimique des senteurs chyprée et ambrée (Anonis D.P.).

VI.2.2. L'eau de fleur d'oranger.

Au XVI^{ème} siècle, l'eau de fleur d'oranger était utilisée pour laver les mains des invités lors des banquets (Gontier J.).

A notre époque, l'eau de fleur d'oranger se retrouve dans certains parfums comme Féminité du bois de *Shisheido* et Oscar d'*Oscar de la Renta* (Ansel J.L.), mais elle est également employée dans les eaux de Cologne classiques (l'eau de Cologne Marina Farina) ainsi que dans des lotions capillaires, des laits et huiles corporels, de même que dans des crèmes pour les soins du visage (Werner M.).

Exemple : DERMAGOR eau florale apaisante* ; lotion à base d'eau de fleur d'oranger. Elle possède des propriétés rafraîchissantes et apaisantes. Elle complète le nettoyage de l'épiderme, apaise les sensations de tiraillement et d'inconfort et enfin prépare la peau aux soins.

VI.2.3. L'HE de petitgrain bigarade.

Cette HE, principalement connue et utilisée pour sa fraîcheur, sert de base à la préparation des eaux de Cologne (Valnet J.). Elle peut entrer également dans la composition d'un certain nombre de produits d'hygiène et cosmétiques comme les savons, shampoings, déodorants (Gontier J.).

Cette HE existe aussi dans un parfum nommé Muguet des bois de *Coty* lancé sur le marché en 1942 (Ansel J.L.). Mais surtout elle est utilisée dans la parfumerie en tant que base dans la fabrication de l'HE de néroli synthétique (Werner M.).

VI.2.4. L'HE d'orange amère.

Cette HE est un produit intéressant pour les parfumeurs car elle possède une forte ténacité. On la retrouve aussi bien dans les après-rasage et les lotions corporelles de la ligne pour hommes que dans les parfums, eaux de toilette et cosmétiques de la ligne pour femmes (Mahora et Eau impériale de *Guerlain*, XS pour elle de *Paco Rabanne* (Ansel J.L. - Boelens M.H., et al.).

Dans le domaine de la parfumerie, la richesse olfactive des HE extraites de l'oranger amer a permis aux parfumeurs et aux chimistes d'élaborer des molécules de synthèse rappelant la fragrance de l'oranger amer ou de la fleur de néroli : le limonène, l'anthranilate de méthyle, l'acétate de linalyle, le nérol, le linalol...(Weil P.).

VI.3. Le domaine agro-alimentaire.

VI.3.1. Utilisation en confiserie-pâtisserie.

L'orange amère peut être utilisée à différents stades de maturité :

- l'orangette (orange amère immature), de la taille d'une grosse bille, peut être dégustée confite dans de l'eau de vie et du sucre ; elle prend alors le nom de chinois (Valnet J.).
- l'orange amère mûre est utilisée pour confectionner la célèbre confiture d'orange amère très prisée au Royaume-Uni où elle porte le nom de marmelade. D'ailleurs, au XIX^{ème} siècle les Ecossais importaient la moitié de la production des oranges amères de la Côte d'Azur pour la fabrication de leur confiture (Gontier J.).

Exemple d'une recette de confiture d'oranges amères :

- 1 kg d'oranges amères
- 2 litres d'eau
- sucre
- 2 citrons

Les fruits doivent être lavés, épépinés et coupés en lamelles. Les oranges seront ensuite trempées dans 2 litres d'eau pendant 24 heures puis cuites jusqu'à ce qu'il y ait réduction d'un tiers du volume. Elles doivent par la suite être passées au presse-purée (grosse grille). Après avoir pesé le jus, ajouter le même poids en sucre. Refaire cuire alors à petits bouillons avec les pépins durant 30 minutes. Passer ce temps, ajouter le jus de 2 citrons. Mettre alors la confiture en bocaux et la stériliser (Gontier J.).

VI.3.2. Utilisation comme aromatisant.

> L'écorce d'orange amère est utilisée comme aromatisant dans les pâtisseries sous forme de fruits confits ou bien sous forme de zestes mûrs, séchés, moulus dans divers desserts (gâteaux, crèmes, beignets, crêpes) (Abrassart J.L.).

> L'eau distillée de fleur d'oranger est aussi utilisée pour aromatiser les desserts (Abrassart J.L.).

> Les HE extraites du bigaradier sont rarement utilisées dans le domaine alimentaire (hormis l'HE d'orange amère) en raison d'un prix de revient élevé. Cependant, l'HE de néroli sert à la fabrication de 2 arômes artificiels :

- | | |
|------------------------------|---------------------|
| - arôme artificiel de fraise | 10 % d'HE de néroli |
| - arôme artificiel de miel | 5% d'HE de néroli |

(Valnet J. - Weil P.)

> Quant aux fleurs d'oranger amer, au parfum si délicat, elles servent à aromatiser le thé vert (Boullard B., 1995).

Elles vont également entrer dans la composition du sirop d'orgeat véritable. A l'origine, ce sirop était une décoction d'orge. Aujourd'hui, il est préparé à partir d'amandes broyées dans de l'eau de fleur d'oranger et de sucre. Ce sirop d'orgeat sert à la confection de divers cocktails (Salle B. et al.).

VI.3.3. Utilisation en liquoristerie.

En liquoristerie, certaines boissons apéritives ou digestives sont élaborées à partir de l'écorce d'orange amère encore verte. Elle sert d'agent aromatique et donne ainsi aux préparations toute leur amertume.

Parmi les boissons alcoolisées préparées à partir d'écorces de bigaradier, nous pouvons citer certains apéritifs à base d'alcool ou de vin (15 à 18°) et certaines liqueurs à base d'extraits (fruits, aromates macérés dans l'alcool et l'eau, eau de vie de vin).

VI.3.3.1. Les apéritifs.

➤ A base d'alcool.

Nous retrouvons les amers bitters qui sont des mélanges aromatiques de saveur amère prononcée. Les bitters sont les « descendants » directs des préparations d'apothicaires : élixirs et baumes. Aujourd'hui, ils sont le plus souvent élaborés à partir d'alcool pur et d'extraits de plantes amères et aromatiques.

Parmi les amers bitters à base d'écorce d'orange amère, nous pouvons noter :

○ L'Amer Picon.

Il s'agit d'une marque commerciale d'un apéritif légèrement sirupeux aux essences d'orange, de gentiane et de quinquina.

○ Le Fernet-Branca.

C'est une marque commerciale de bitter italien créé à la fin du XIX^{ème} siècle. Il est fabriqué à partir de racines, d'herbes et de plantes dont l'oranger amer. Il serait remarquablement efficace lors de « lendemains difficiles ». Il est aussi recommandé en cas de manque d'appétit.

- L'Angostura bittera.

C'est également une marque commerciale d'un bitter alcoolisé (44°) préparé à partir de rhum et d'oranges amères. Il est si concentré que quelques gouttes suffisent à aromatiser cocktails et pâtisseries.

- A base de vin (15 à 18°).

- Les vermouths.

Quel que soit le lieu de leur fabrication (Italie ou France) les vermouths ont pour base des vins blancs alcoolisés titrant entre 15° et 18° et aromatisés de substances végétales dont l'orange amère qui fait partie des principaux aromates entrant dans la composition de ces apéritifs. Il existe plusieurs types de vermouths :

- le vermouth sec (dry, secco)
- le vermouth blanc moelleux
- le vermouth rouge (sa coloration est due à une adjonction de caramel)
- le vermouth de Turin (il peut être aromatisé à la vanille, au quinquina ou aux plantes amères)

Pour les marques commerciales de vermouths nous pouvons citer : Martini, Cinzano, Noilly Prat.

- L'Americano.

Il s'agit d'un apéritif élaboré à partir de vins rouges ou blancs aromatisés d'herbes, d'épices et d'alcoolats d'orange. Sa note particulière est souvent due à la macération d'écorces d'orange amère.

- Les quinquinas.

Ces apéritifs sont préparés à partir de vins rouges ou blancs, de mistelles (il s'agit d'assemblages de jus de raisin frais (moûts) et d'alcool) et aromatisés par le quinquina et des extraits de plantes, de racines, d'herbes. Parmi les quinquinas élaborés avec des écorces d'orange amère, il existe le Byrrh, l'Ambassadeur, le Saint-Raphaël.

VI.3.3.2. Les liqueurs.

- A base de fruits.

- Le Kubanskaya.

Il s'agit d'une liqueur amère russe (40°) préparée à partir d'alcool, d'une macération d'écorces d'orange amère et de citron, d'acide citrique et de sirop.

➤ A base d'extraits.

○ L'Okhotnichya.

Cette liqueur russe (45°) est fabriquée à partir d'une macération d'épices (baie de genièvre, poivre noir, piment rouge) et de plantes dont l'orange amère additionnée de porto blanc et légèrement sucrée. Sa saveur est douce et peu épicée.

○ Le curaçao.

Cette liqueur d'origine hollandaise est préparée à partir d'écorces d'orange amère sèches mises à infuser dans l'alcool pendant 12 à 36 heures. Après distillation, l'alcoolat d'orange obtenu est édulcoré et parfois coloré. Le Triple-sec, le Cointreau, le Grand-Marnier en sont des dérivés :

▪ Le Triple-sec.

C'est une liqueur douce fabriquée avec un alcoolat d'orange (provenant d'une macération d'oranges amères dans de l'alcool neutre suivie de une ou deux distillations) et édulcorée avec du sucre et dont le titre alcoolique n'excède pas 25°. Le Triple-sec se boit en digestif et sert à l'aromatisation de certaines pâtisseries et cocktails. Cette liqueur, élaborée par de nombreuses distilleries, a engendré de grandes marques tels que le Grand-Marnier et le Cointreau.

>Le Grand-Marnier.

Il s'agit d'une marque commerciale d'une liqueur fabriquée à partir d'un alcoolat d'orange (à base d'écorces d'orange amère et d'alcool) mélangé à du Cognac ou à des eaux-de-vies.

>Le Cointreau.

C'est la marque commerciale d'une liqueur fine et délicate, douce au goût et forte en alcool (40°). Cet alcool est élaboré à partir d'une macération d'écorces d'orange (oranges amères des Antilles et oranges douces de la côte méditerranéenne) dans de l'alcool neutre (Salle B., et al.).

Comme nous venons de le voir, l'orange amère est utilisée dans la fabrication industrielle de certains alcools ; cependant son utilisation est aussi possible dans la préparation artisanale de certaines boissons (Gontier J.).

➤ Vin d'orange amère.

Recette de base : faire macérer pendant 45 jours, 5 oranges amères, 1 orange douce, 1 citron et 1 gousse de vanille dans 5 litres de vin rosé et 1 litre d'alcool additionnés de 1 kg de sucre. Après macération, filtrer la préparation et mettre en bouteilles.

➤ Liqueur d'orange amère : le 44.

Recette de l'arrière pays niçois : faire macérer pendant 44 jours, 1 orange amère percée de 44 trous à l'aide d'une aiguille à tricoter, 44 morceaux de sucre et 44 grains de café dans 1 litre d'eau-de-vie. Après macération, filtrer la préparation.

VI.4. Usages rituels.

Il existe quelques rituels encore pratiqués dans certains pays liés aux significations anciennes accordées à l'oranger amer.

Dans la Chine ancienne, par exemple, lorsqu'un jeune homme offrait des oranges à une jeune fille, son geste correspondait à une demande en mariage. De même, autrefois au Viêt-nam, la coutume voulait que l'on offre des oranges à un jeune couple afin de lui souhaiter d'avoir de nombreux enfants. En effet, il est dit que le fruit de l'oranger amer symboliserait l'amour. Ses rondeurs rappellent le sein maternel et ses nombreux pépins, la fécondité.

Les fleurs de l'oranger amer, quant à elles, symbolisent la pureté et la virginité. C'est pourquoi la couronne de fleurs de la jeune mariée en est ornée (Brosse J.).

On retrouve également quelques traditions qui se perpétuent encore dans quelques régions de France, notamment la coutume de l'élection de la rosière. Ainsi, la jeune fille qui était l'heureuse gagnante recevait en cadeau une rose blanche et une couronne de fleurs d'oranger. C'était une manière de l'encourager à coiffer bientôt la couronne de fleurs d'oranger de son mariage. A Vence, petite ville de Provence, c'était autrefois les amies de la future mariée qui cueillaient les boutons et les fleurs d'oranger pour confectionner la couronne de la noce.

Et quand un enfant naissait il était autrefois de coutume de couvrir son berceau de branches d'oranger chargées de fruits (Gontier J.).

Dans quelques pays étrangers, notamment dans ceux du Maghreb, il existe certaines pratiques liées à certains grands moments de la vie (naissance, mariage, mort) qui utilisent l'oranger amer et ses produits dérivés. Ainsi, lors du rituel maghrébin pour la cérémonie de mariage reposant à la fois sur la purification, la sexualité et la fécondité, la corbeille de la mariée contiendra entre autres choses de l'eau de fleur d'oranger. De même, lors des rites funéraires, le corps du mort est entièrement parfumé à l'eau de rose et à l'eau de fleur d'oranger (Boullard B., 1995).

Conclusion

Nous avons vu tout au long de cette étude la place plus ou moins importante accordée à l'oranger amer dans ses divers domaines d'application.

Dès son introduction par les Arabes en Europe, cette espèce végétale, dont l'origine géographique se situe en Asie du sud-est, a suscité de l'intérêt autour d'elle.

Sa composition chimique « particulière » : elle renferme une forte concentration d'HE de nature différente en fonction de l'organe botanique dont elle est issue (HE de néroli pour les fleurs, HE de petitgrain pour les feuilles et HE d'orange amère pour les fruits), n'est pas étrangère à son succès. En effet, sa teneur importante en composés volatils a permis son utilisation dans des domaines aussi variés que les industries agro-alimentaires et pharmaceutiques ainsi que la parfumerie.

Dans l'industrie agro-alimentaire, l'oranger amer reste une valeur sûre puisqu'il sert de matière première à la fabrication de produits dont la renommée n'est plus à faire : ainsi la marmelade d'orange amère, le Cointreau ou le Grand-Marnier ne seraient pas ce qu'ils sont sans l'orange amère ! Il en est de même de la célèbre eau de fleur d'oranger qui parfume si merveilleusement crêpes, beignets et autres gourmandises !

L'oranger amer possède également un rôle important dans le domaine de la parfumerie grâce à l'utilisation de ses trois HE lui permettant d'être présent dans un grand nombre de parfums. Malheureusement le coût élevé de ces HE, notamment de l'HE de néroli bigarade, fait que celles-ci ont tendance à être abandonnées au profit des HE synthétiques dont la fabrication est moins coûteuse. Il n'en reste pas moins que l'utilisation de l'oranger amer s'est diversifiée au sein de la parfumerie puisque nous le retrouvons aujourd'hui dans la formulation de savons, déodorants, bains moussants, crèmes pour le corps.

En pharmacie, bien que son principal domaine d'utilisation reste la phytothérapie dans le traitement des troubles mineurs du sommeil et de certains troubles digestifs d'origine nerveuse, l'oranger amer a su y apporter sa contribution en tant qu'excipient aromatisant dans la formulation d'un certain nombre de spécialités pharmaceutiques et en servant de matière première pour l'élaboration de principes actifs à actions veinotonique et vasculoprotectrice. Ces médicaments vasculoprotecteurs sont d'ailleurs largement représentés et fortement consommés en France.

L'écorce d'orange amère sert de matière première également pour l'extraction des pectines utilisées en pharmacie comme en agro-alimentaire.

Cependant, ces dernières années, l'oranger amer prendrait un nouvel essor dans le domaine de la pharmacie et de la diététique avec l'exploitation d'une molécule que l'on retrouve principalement dans l'écorce de l'orange amère : la synéphrine. Cette molécule agit sur le déstockage des graisses de l'organisme ainsi que sur le métabolisme de base ; ce qui a permis la formulation et la mise sur le marché de nouveaux produits à visée amincissante mais dont l'utilisation reste pour l'instant du domaine de la parapharmacie en tant que complément alimentaire.

Néanmoins, il est à noter que l'oranger amer demeure une matière première à développer puisque les propriétés biologiques de certains de ses constituants font mention d'une activité antimutagène (pour trois molécules : la nobilétine, la sinensétine

et la tétra-O-méthylscutellaréine) et d'une activité anti-inflammatoire et analgésique (pour l'hespéridine).

Actuellement ces activités sont encore au stade *in vitro* mais elles méritent d'être approfondies d'autant plus que les matières premières sont abondantes.

De même, il existe un autre domaine où l'oranger amer possède une importance, il s'agit de l'aromathérapie avec l'utilisation de ses trois HE : néroli bigarade, petitgrain, orange amère. Ces HE sont employées principalement pour leurs actions antispasmodique et sédative.

L'oranger amer est une valeur sûre du règne végétal de par son abondance (il se cultive assez facilement), la particularité de sa composition chimique qui lui permet d'être utilisé dans des industries diverses, son utilisation traditionnelle et ancienne concernant ses effets sédatifs, toniques, amers, apéritifs et antispasmodiques et son emploi plus récent comme amincissant.

Finalement, l'oranger amer est porteur d'espoir dans le domaine pharmaceutique puisqu'il a fait l'objet d'expérimentations qui sont à encourager.

Bibliographie

Abrassart J.L.

Aromathérapie essentielle.

Paris : Guy Trédaniel, 1997.- 271 p. - (collection l'âme et le corps).

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

Huiles essentielles, recueil de normes françaises. - (3^{ème} édition).

Paris : Afnor, 1989. - 609 p.

Allinger N.L., Cava M.P., Dejongh D.C., et al.

Chimie organique, volume 1 : structure.

Paris : Ediscience international, 1975 - 1976.

Anonis D.P.

Neroly in perfumery.

Perfumer and flavorist, 1985, 10, pp 7 - 10.

Ansel J.L.

Les arbres à parfums.

Paris : édition Eyrolles, 2001. - 147 p.

Bellakhdar J.

La Pharmacopée marocaine traditionnelle.

Paris : Ibis presse, 1997. - 764 p.

Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., et al.

Plantes médicinales des régions tempérées.

Paris : Maloine SA éditeur, 1980. - 439 p.

Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M.

Les plantes dans la thérapeutique moderne.

Paris : Maloine SA éditeur, 1986. - 529 p.

Boelens M.H., Oporto A.

Natural isolates from Seville bitter orange tree.

Perfumer and flavorist, 1991, 16, pp 1, 3 - 7

Boullard B.

La nature des arômes et des parfums.

Paris : Estem, 1995. - 224 p.

Boullard B.

Plantes médicinales du monde - réalités et croyances.
Paris : Estem, 2001. - 636 p.

Brosse J.

La magie des plantes.
Paris : Albin Michel, 1990. - 311 p.

Bruneton J.

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. - (3^{ème} édition).
Paris : Techniques et documentation, 1999. - 1120 p.

Caccioni D.R.L., Guizzardi M., Biondi D.M., et al.

Relationship between volatile components of *Citrus* fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*.
International journal of food microbiologie, 1998, 43, (1), pp 73 - 79.

Calapai G., Firenzuoli F., Saitta A., et al.

Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat : a preliminary report.
Fitoterapia, 1999, 70, pp 586 - 592.

Carvalho-Freitas M.I.R., Costa M.

Anxiolytic and sedative effects of extracts and essential oil from *Citrus aurantium* L.
Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2002, 25, (12), pp 1629 - 1633.

Chevallier L., Segarra-Crouzet C.

Le Vademecum des médicaments à base de plantes.
Paris : Masson, 2001. - 494 p.- (collection aide-mémoire).

Colker C.M., Kalman D.S., Torina G.C., et al.

Effects of *Citrus aurantium* extracts, caffeine and St. John's wort on body fat loss, lipid levels and mood states in overweight healthy adults.
Current therapeutic research, 1999, 60, (3), pp 145 - 153.

Dajoz R.

Les insecticides.
Paris : Presses universitaires de France (PUF), 1969 - 127 p. - (collection Que sais-je ?).

Da Silva Emim J.A., Braga Oliveira A., Lapa A.J.

Pharmacological evaluation of the antiinflammatory activity of a citrus bioflavonoïd, hesperidin and the isoflavonoïds, dauricin and claussequinone in rats and mice.

Journal of pharmacy and pharmacology, 1994, 46, (2), pp 118 - 122.

De la Quintinie J.B.

Instruction pour les jardins fruitiers et potagers : avec un traité de la culture des orangers, suivi de quelques réflexions sur l'agriculture.

Arles, Rennes : Actes Sud ENSP, 1999. - 1200 p. - (collection Thesaurus).

De Ravel d'Esclapon G.

Les agrumes et les fruits exotiques : comment les planter, les cultiver, les soigner.

Paris : Solar, 1990.- 151 p.

Dictionnaire de la Botanique.

Paris : Albin Michel, 1999. - 1510 p. - (collection Encyclopedia Universalis).

Dorvault F.

Dorvault l'officine . - (23^{ème} édition).

Paris : Vigot, 1995. - 2089 p.

Dugo P., Mondello L., Dugo G., et al.

Oxygen heterocyclic compounds of *Citrus* essential oils.

Perfumer and flavorist, 1997, 22, pp 25 - 30.

Duriez F.

Dictionnaire des médicaments naturels.

Paris : Seuil, 2000. - 297 p.

Giraud N.

L'oranger doux, l'oranger amer.

Thèse d'exercice en pharmacie. Clermont-Ferrand : Université de Clermont-Ferrand, 1993. -77 p.

Girre L.

La santé par les plantes.

Rennes : Ouest-France, 1992. -222 p.

Girre L.

Les plantes médicinales.

Rennes : Ouest-France, 1995. - 32 p.

Girre L.

Traditions et propriétés des plantes médicinales.

Toulouse : Privat, 1997. - 271 p. - (collection bibliothèque historique Privat).

Gontier J.

L'oranger.

Arles : Actes Sud, 2000. - 89 p. - (collection le nom de l'arbre).

Guignard J.L.

Botanique. -(11^{ème} édition révisée).

Paris : Masson, 1998. - 278 p. - (collection abrégés de pharmacie).

Haggag E.G., Mahmoud I.I., Abou-Moustafa E.A., et al.

Coumarins, fatty acids, volatile and non volatile terpenoids from the leaves of *Citrus aurantium* L. (sour orange) and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (sweet orange).

Asian journal of chemistry, 1999, 11, (3), pp 784 - 789.

Huang S., Hu S., Shi J., et al.

Studies on chemical constituents from the flower of *Citrus aurantium*.

Journal of chinese medicinal materials, 2001, 24, (12), pp 865 - 867.

Kawaii S., Tomono Y., Katase E, et al.

Quantitative study of flavonoids in leaves of *Citrus* plants.

Journal of agricultural and food chemistry, 2000, 48, pp 3865 - 3871.

Klyne W.

La chimie des stéroïdes.

Paris : Gauthier-Villars, 1966. - 256 p.

Laberche J.C.

Biologie végétale.

Paris : Dunod, 1999. - 240 p. - (collection abrégés de sciences).

Lanzara P., Pizetti M.

Les arbres.

Paris : Nathan, 1994. - 377 p.

Lawrence B.M.

Progress in essential oils.

Perfumer and flavorist, 1997, 22, pp 45 - 50.

Lawrence B.M.

Progress in essentials oils.

Perfumer and flavorist, 2000, 25, pp 46 - 50.

Loussert R.

Les agrumes volume 2 production.

Paris : technique et documentation-Lavoisier, Liban : éditions scientifiques universitaires, 1989. - 157 p. - (collection techniques agricoles méditerranéennes).

Mahuzier G., Hamon M.

Chimie analytique tome 2. Méthodes de séparation. - (3^{ème} édition).

Paris : Masson, 1999. - 312 p. - (collection abrégés de pharmacie).

Martindale - the complete drug reference.

Thirty second edition.

London : Kathleen Parfitt, Bsc, FrPharmS, 1999. - 2315 p.

Maxwell-Hudson C.

Le bien-être par les huiles essentielles.

Paris : Hachette, 1995. - 112 p.

Merck Index.

Twelfth edition.

Rahway New Jersey : Merck and Co., Inc, 1996. - 1741 p.

Michel P.

Les plantes de l'herboriste.

Paris : édition Robert Jauze, 1983. - 311 p.

Miyazawa M., Okuno Y., Fukuyama M., et al.

Antimutagenic activity of polymethoxyflavonoïds from *Citrus aurantium*.

Journal of agricultural and food chemistry, 1999, 47, pp 5239 - 5244.

Moro C.O., Basile G.

Obesity and medicinal plants.

Fitoterapia, 2000, 71, pp 573 - 582.

Newman A.A.

Chemistry of terpenes and terpenoïds.

London: Academic press inc, 1972. - 449 p.

Le nouveau Petit Robert.

Paris: Dictionnaires le Robert, 1993. - 2841 p.

Pellatti F., Benvenuti S., Melegari M., et al.

Determination of adrenergic agonist from extracts and herbal product of *Citrus aurantium* L. var. *amara* by LC.

Journal pharmaceutical biomedical anal, 2002, 29, 6, pp 1113 - 1119.

Penzak S.R., Jann M.W., Cold J.A., et al.

Seville (sour) orange juice : synephrine content and cardiovascular effects in normotensive adults.

Journal of clinical pharmacology, 2001, 41, pp 1059 - 1063.

Pharmacopée européenne 3^{ème} édition addendum 1998.

Strasbourg : Direction de la qualité du médicament du Conseil de l'Europe DEQM, 1997. -591 p.

Pharmacopée européenne 4^{ème} édition.

Strasbourg : Direction de la qualité du médicament du Conseil de l'Europe DEQM, 2001. -2623 p.

Pharmacopée Française 8^{ème} édition, 9^{ème} édition, 10^{ème} édition.

Moulin-les-Metz : Maisonneuve éditeur.

Poletti A.

Fleurs et plantes médicinales. - (volume 3).

Paris : Delachaux et Niestlé S.A., 1987. - 192 p.

Praloran J.C.

Les agrumes.

Paris : Maisonneuve et Larose, 1971. - 565p. - (collection techniques agricoles et productions tropicales).

Richard H., Multon J.L.

Les arômes alimentaires.

Paris: Technique et documentation - Lavoisier, 1992. - 438 p. - (collection sciences et techniques agro-alimentaires).

Salle B., Salle J.

Larousse des alcools.

Paris : Librairie Larousse, 1982. - 240 p.

Schauenberg P.

Le guide des plantes médicinales. - (3^{ème} édition).

Paris : Delachaux et Niestlé, 1977. -396 p.

Teisseire P.J.

Chimie des substances odorantes.

Paris : Technique et documentation - Lavoisier, 1991. - 480 p.

Valnet J.

Aromathérapie - Traitement des maladies par les essences des plantes.

Paris : Maloine, 1990. - 468 p.

Veriotti T., Sacks R.

High speed characterization and analysis of orange oils with tandem-column stop-flow GC and time-of-flight MS.

Analytical chemistry, 2002, 74, (21), pp 5635 - 5640.

Vidal 2003 : le dictionnaire.

79^{ème} édition.

Paris : édition du Vidal, 2003. - 2175 p.

Wagner H, Bladt S., Zgainski E.M.

Plant drug analysis.

Berlin, Heidelberg : Springer Verlag, 1984. - 320 p.

Weil P.

Grasse, ville des parfums: l'oranger amer.

Thèse d'exercice en pharmacie. Montpellier : Université de Montpellier 1, 1984. - 55 p.

Werner M.

Guide de l'aromathérapie.

Paris : Marabout, 2000 - 246 p.

Wichtl M., Anton R.

Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.- (2^{ème} édition).

Paris : Technique et documentation, 2003 - 692 p.

Wolff E.

Les mots latins du français.

Paris : Belin, 1993. - 318 p. - (collection le français retrouvé).

Liste des figures et tableaux

Figures

FIGURE 1 : LA FEUILLE DU BIGARADIER.....	17
FIGURE 2 : LA FLEUR DU BIGARADIER.	18
FIGURE 3 : LA BAIE GLOBULEUSE DE L'ORANGE AMERE.....	19
FIGURE 4 : LES DIFFERENTS PRODUITS EXTRAITS DE L'ORANGER AMER.	42
FIGURE 5 : CHROMATOGRAMME DES COMPOSES HETEROCYCLIQUES OXYGENES CONTENUS DANS L'HE D'ORANGE AMERE.	120
FIGURE 6 : EFFETS D'UNE ADMINISTRATION ORALE QUOTIDIENNE DE DEUX EXTRAITS DE CITRUS AURANTIUM SUR LA PRISE DE NOURRITURE DES RATS.	142
FIGURE 7 : EFFETS D'UNE ADMINISTRATION ORALE QUOTIDIENNE DE DEUX EXTRAITS DE CITRUS AURANTIUM SUR LE GAIN DE MASSE CORPORELLE DES RATS.	143
FIGURE 8 : EFFETS D'UNE ADMINISTRATION ORALE REPETEE DU VEHICULE (A) ET DE CITRUS AURANTIUM (Ci. AU. 6%, 20 MG/KG PENDANT 15 JOURS) (B) SUR L'ACTIVITE ELECTRIQUE DU MYOCARDE CHEZ LE RAT.....	148
FIGURE 9 : SCHEMA D'EXTRACTION DES COMPOSES SUPPRESSEURS DE CITRUS AURANTIUM.	154
FIGURE 10 : SUPPRESSION DE LA REPONSE SOS INDUITE PAR LES UV, PAR LES COMPOSES 1, 2 ET 3.	158
FIGURE 11 : EFFETS DES COMPOSES 1, 2 ET 3 SUR L'ACTIVITE MUTAGENE DU FURYLURAMIDE CHEZ S. TYPHIMURIUM TA 100.	158
FIGURE 12 : EFFETS DES COMPOSES 1, 2 ET 3 SUR L'ACTIVITE MUTAGENE DE TRP-P-1 ET TRP-P-1 ACTIVE CHEZ S.TYPHIMURIUM TA 100.	159
FIGURE 13 : EFFETS DE L'HUILE ESSENTIELLE SUR LA DUREE DU SOMMEIL DES ANIMAUX INDUIT PAR LE PENTOBARBITAL.	161
FIGURE 14 : EFFETS DE L'EXTRAIT BRUT ET DES FRACTIONS SUR LA DUREE DU SOMMEIL DES ANIMAUX INDUIT PAR LE PENTOBARBITAL SODIUM	162
FIGURE 15 : EFFETS DE L'HUILE ESSENTIELLE DANS LE TEST DU LABYRINTHE CHEZ LES ANIMAUX.	163
FIGURE 16 : EFFETS DE L'EXTRAIT ET DES FRACTIONS DANS LE TEST DU LABYRINTHE CHEZ LES ANIMAUX.	163
FIGURE 17 : EFFETS DU PRETRAITEMENT AVEC LE VEHICULE, L'ESPERIDINE OU LA DIPHENHYDRAMINE SUR L'ŒDEME DE LA PATTE DES RATS INDUIT PAR LES CARRAGENATES OU LES DEXTRANS.	168
FIGURE 18 : CONSTRICTIONS ABDOMINALES INDUITES PAR L'ACIDE ACETIQUE 1% CHEZ LES SOURIS PRETRAITEES AVEC LE VEHICULE, L'ESPERIDINE OU L'INDOMETACINE.	170
FIGURE 19 : EFFETS DU VEHICULE, DE L'ESPERIDINE ET DU DIPYRONE SUR LA FIEVRE INDUITE PAR LES LEVURES.....	171

Tableaux

TABLEAU 1 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DE NEROLI BIGARADE PROVENANT DE 5 PAYS DIFFERENTS.	74
TABLEAU 2 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DE NEROLI PROVENANT DES PETALES, PISTIL ET ETAMINES DES FLEURS.	75
TABLEAU 3 : COMPOSITION CHIMIQUE DE 2 HE DE NEROLI PROVENANT POUR L'UNE DES FLEURS, POUR L'AUTRE DES BOUTONS.....	76
TABLEAU 4 : COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE 2 « HEADSPACE » DES FLEURS D'ORANGER AMER.....	78
TABLEAU 5 : COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE 2 ABSOLUES DES EAUX DE FLEUR D'ORANGER.	85
TABLEAU 6 : COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE 2 ABSOLUES DES EAUX DE FLEUR D'ORANGER, L'UNE FRAICHE, L'AUTRE STOCKEE.	86
TABLEAU 7 : COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE 2 ABSOLUES DE FLEUR D'ORANGER.	88
TABLEAU 8 : TENEUR EN BERGAPTENE DANS 3 ABSOLUES DE FLEUR D'ORANGER D'ORIGINE DIFFERENTE..	90

TABLEAU 9 : RECAPITULATIF DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES DIFFERENTS PRODUITS OBTENUS APRES TRAITEMENT DES FLEURS D'ORANGER AMER.....	93
TABLEAU 10 : REPARTITION DES DIFFERENTS GROUPES CHIMIQUES DES 4 PRODUITS PRECEDEMMENT ETUDIES.....	94
TABLEAU 11 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DE PETITGRAIN (ETUDE DE BOELENS M.H., ET AL.).....	98
TABLEAU 12 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DE PETITGRAIN (ETUDE DE HAGGAG E.G., ET AL.).....	99
TABLEAU 13 : COMPARAISON DES COMPOSITIONS CHIMIQUES DE L'HE DE PETITGRAIN ET DE L'ABSOLUE DES EAUX DE BROUITS.....	109
TABLEAU 14 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE D'ORANGE AMERE (ETUDE DE CACCIONI ET AL.).....	114
TABLEAU 15 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE D'ORANGE AMERE (ETUDE DE VERIOTTI T. ET AL.).....	116
TABLEAU 16 : COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE 2 HE D'ORANGE AMERE, L'UNE PROVENANT DE FRUITS IMMATURES, L'AUTRE DE FRUITS MURS.....	119
TABLEAU 17 : TENEUR EN COMPOSES HETEROCYCLIQUES OXYGENES DANS L'HUILE ESSENTIELLE D'ORANGE AMERE.....	120
TABLEAU 18 : TENEUR EN COMPOSES HETEROCYCLIQUES OXYGENES DE 7 HE COMMERCIALES D'ORANGE AMERE.....	122
TABLEAU 19 : RECAPITULATIF DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES TROIS ORGANES BOTANIQUES DE L'ORANGER AMER.....	139
TABLEAU 20 : CARACTERISTIQUES DE BASE DES 3 GROUPES D'ETUDES.....	144
TABLEAU 21 : CHANGEMENTS PHYSIQUES ET METABOLIQUES DES TROIS GROUPES D'ETUDES.....	145
TABLEAU 22 : EFFETS D'UNE ADMINISTRATION ORALE REPETEE (15 JOURS CONSECUTIFS) DE DEUX EXTRAITS DE FRUITS DE CITRUS AURANTIUM A 4% ET 6% DE SYNEPHRINE (CI. AU. 4% ET CI. AU. 6%) SUR LA MORTALITE CHEZ LE RAT.....	147
TABLEAU 23 : EFFETS D'UNE ADMINISTRATION ORALE REPETEE (20 MG/KG/JOUR) DE DEUX EXTRAITS DE CITRUS AURANTIUM (CI. AU.) A 4% ET 6% DE SYNEPHRINE SUR LES RESULTATS DE L'ECG (ELECTROCARDIOGRAMME).....	148
TABLEAU 24 : EFFETS HEMODYNAMIQUES DU JUS D'ORANGE AMERE (JOA).....	149
TABLEAU 25 : ACTIVITE ANTIFONGIQUE D'HUILES ESSENTIELLE DE CITRUS AURANTIUM.....	152
TABLEAU 26 : SUPPRESSION DE LA REPOSE SOS INDUITE PAR LE FURYLURAMIDE CHEZ S. TYPHIMURIUM TA 1535/PSK 1002 PAR LES COMPOSES 1, 2 ET 3.....	156
TABLEAU 27 : SUPPRESSION DE LA REPOSE SOS INDUITE PAR LE TRP-P-1 ET LE TRP-P-1 ACTIVE PAR LES COMPOSES 1, 2 ET 3 CHEZ S. TYPHIMURIUM TA 1535/PSK 1002.....	157
TABLEAU 28 : EFFETS SUR LES CRISES D'EPILEPSIE INDUITES PAR LE PENTYLENETETRAZOLE.....	164
TABLEAU 29 : EFFETS SUR LES CRISES D'EPILEPSIE INDUITES PAR LES ELECTROCHOCS.....	165
TABLEAU 30 : DEGRE D'IRRITATION GASTRIQUE (INDEX D'ULCERE) ET NOMBRE D'ULCERE PAR CM ² SUR LA MUQUEUSE GASTRIQUE DES RATS TRAITES EN SC AVEC LE VEHICULE, L'HESPERIDINE OU L'INDOMETACINE.....	171
TABLEAU 31 : QUELQUES SPECIALITES MEDICAMENTEUSES AYANT COMME SEUL PRINCIPE ACTIF LA DIOSMINE.....	185

Table des matières

SUR LA ROUTE DE L'ORANGER AMER.....	9
I.1. HISTOIRE.....	10
I.2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	12
ETUDE BOTANIQUE DE L'ORANGER AMER	13
II.1. IDENTITE.....	14
II.2. TAXINOMIE.....	14
II.3. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	15
II.3.1. <i>Famille des Rutacées.</i>	15
II.3.2. <i>L'oranger amer.</i>	16
II.3.2.1. L'appareil végétatif.....	16
II.3.2.1.1. Le squelette de l'arbre.....	16
II.3.2.1.2. La feuille.....	16
II.3.2.2. L'appareil reproducteur.....	17
II.3.2.2.1. La fleur.....	17
II.3.2.2.2. Le fruit.....	18
II.3.2.2.3. La graine.....	19
II.4. CULTURE DE L'ORANGER AMER.....	19
II.4.1. <i>Les conditions climatiques.</i>	20
II.4.2. <i>La nature du sol.</i>	20
II.4.3. <i>Le mode de multiplication du bigaradier.</i>	21
II.4.4. <i>La plantation.</i>	22
II.4.5. <i>La taille des arbres.</i>	22
II.4.5.1. La taille de formation.....	22
II.4.5.2. La taille de fructification.....	22
II.4.5.2.1. La vigueur.....	22
II.4.5.2.2. La fertilité.....	22
II.4.5.2.3. L'équilibre.....	23
II.4.5.3. La taille de régénération ou de recépage.....	23
II.4.6. <i>La production de l'arbre.</i>	23
II.4.7. <i>La récolte.</i>	23
II.4.7.1. Les boutons floraux.....	23
II.4.7.2. Les fleurs.....	23
II.4.7.3. Les fruits verts.....	24
II.4.7.4. Les fruits mûrs.....	24
II.4.7.5. Les feuilles.....	24
II.4.7.6. Les rameaux (brouts).....	24
II.5. LES MAUX DE L'ORANGER AMER.....	24
II.5.1. <i>Les parasites de l'arbre.</i>	24
II.5.1.1. Les acariens.....	25
II.5.1.2. Les aleurodes.....	25
II.5.1.3. Les cochenilles.....	25
II.5.1.4. La mineuse.....	26
II.5.1.5. La mouche des fruits.....	26
II.5.1.6. Les nématodes.....	26
II.5.1.7. Les pucerons.....	26
II.5.1.8. La teigne de l'oranger.....	26
II.5.2. <i>Les principales maladies de l'oranger amer.</i>	27
II.5.2.1. Le mal sec.....	27
II.5.2.2. Le mal noir.....	27
II.5.2.3. L'anthracnose des Citrus.....	27
II.5.2.4. La fumagine.....	27
II.5.2.5. Les bactérioses.....	28
II.5.2.6. Les viroses.....	28
II.5.3. <i>Les carences de l'oranger amer.</i>	28
LES DIFFERENTES PARTIES BOTANIQUES UTILISEES.....	30
III.1. LES FLEURS.....	31

III.1.1. Dénominations diverses.....	31
III.1.2. Définition.....	31
III.1.3. Caractères.....	31
III.1.3.1. Macroscopiques.....	31
III.1.3.2. Microscopiques.....	31
III.1.4. Identification.....	32
III.1.5. Essais.....	32
III.1.5.1. Eléments étrangers.....	32
III.1.5.2. Perte à la dessiccation.....	32
III.1.5.3. Cendres totales.....	32
III.1.5.4. Absorbance.....	32
III.1.6. Les deux états d'utilisation de la fleur d'oranger amer.....	32
III.1.6.1. Les fleurs séchées.....	32
III.1.6.2. Les fleurs fraîches.....	33
III.1.7. Falsifications.....	33
III.2. LES FEUILLES.....	33
III.2.1. Dénominations diverses.....	33
III.2.2. Définition.....	33
III.2.3. Caractères.....	34
III.2.4. Identification.....	34
III.2.5. Essais.....	34
III.2.5.1. Teneur en eau.....	34
III.2.5.2. Cendres sulfuriques.....	34
III.2.5.3. Chromatographie.....	34
III.2.6. Les deux états d'utilisation des feuilles d'oranger amer.....	34
III.2.6.1. Les feuilles séchées.....	34
III.2.6.2. Les feuilles fraîches.....	35
III.2.7. Dosage.....	35
III.2.8. Falsifications.....	35
III.3. LES FRUITS MURS.....	35
III.3.1. Définition de la drogue.....	35
III.3.2. Dénominations diverses.....	36
III.3.3. Caractères.....	36
III.3.3.1. Macroscopiques.....	36
III.3.3.2. Microscopiques.....	36
III.3.4. Identification.....	37
III.3.5. Essais.....	38
III.3.5.1. Eléments étrangers.....	38
III.3.5.2. Teneur en eau.....	38
III.3.5.3. Cendres totales.....	38
III.3.5.4. Matières extractibles.....	38
III.3.5.5. Chromatographie.....	38
III.3.6. Dosage.....	39
III.3.7. Produits obtenus à partir du fruit mûr.....	39
III.3.8. Conservation.....	39
III.3.9. Falsifications.....	40
III.4. LES FRUITS IMMATURES.....	40
III.4.1. Dénominations diverses.....	40
III.4.2. Définition.....	40
III.4.3. Description.....	40
III.4.4. Caractères.....	41
III.4.4.1. Macroscopiques.....	41
III.4.4.2. Microscopiques.....	41
III.4.5. Identification.....	41
III.4.6. Produit issu du traitement des orangettes.....	41
III.4.7. Falsifications.....	41
III.5. CONCLUSION.....	41

CARACTERISTIQUES ET COMPOSITION CHIMIQUE DES TROIS PARTIES DE L'ORANGER AMER ET DE LEURS PRODUITS DERIVES43

IV.1. LES HUILES ESSENTIELLES.....	44
IV.1.1. Généralités sur les huiles essentielles (HE).....	44

IV.1.1.1. Définition.....	44
IV.1.1.2. Répartition - Localisation.....	44
IV.1.1.3. Propriétés physiques.....	45
IV.1.1.4. Composition chimique.....	45
IV.1.1.5. Facteurs de variabilité des HE.....	45
IV.1.1.6. Différents procédés d'obtention des HE.....	46
IV.1.1.6.1. Entraînement par la vapeur d'eau.....	46
IV.1.1.6.2. Expression des épicarpes de « Citrus ».....	46
IV.1.1.6.3. Autres procédés.....	47
IV.1.1.7. Contrôle des HE.....	47
IV.1.1.8. Propriétés pharmacologiques des HE.....	49
IV.1.1.9. Toxicité des HE.....	50
IV.1.1.9.1. Toxicité aiguë.....	50
IV.1.1.9.2. Toxicité chronique.....	51
IV.1.1.9.3. Toxicité dermique.....	51
IV.1.1.9.4. Cancérogénicité.....	51
IV.1.1.10. Emploi des HE.....	51
IV.1.1.11. Conservation des HE.....	52
<i>IV.1.2. HE des fleurs et les produits dérivés.....</i>	<i>52</i>
IV.1.2.1. HE de néroli bigarade.....	52
IV.1.2.1.1. Définition.....	52
IV.1.2.1.2. Dénomination diverses.....	52
IV.1.2.1.3. Mode d'obtention.....	53
IV.1.2.1.4. Identification.....	53
IV.1.2.1.5. Essais.....	54
IV.1.2.1.5.1. Densité, indice de réfraction, angle de rotation optique et indice d'acide.....	54
IV.1.2.1.5.2. Essai du bergaptène.....	54
IV.1.2.1.5.3. Profil chromatographique.....	54
IV.1.2.1.6. Conservation.....	56
IV.1.2.1.7. Caractères organoleptiques.....	56
IV.1.2.1.8. Propriétés physico-chimiques.....	56
IV.1.2.1.9. Falsifications.....	57
IV.1.2.1.10. Composition chimique.....	58
IV.1.2.1.10.1. Analyse chronologique.....	58
IV.1.2.1.10.2. Analyse des différents groupes chimiques constituant l'HE de néroli bigarade.....	65
IV.1.2.1.10.3. Variabilité de la composition chimique de l'HE de néroli bigarade.....	73
IV.1.2.1.10.4. Espace de tête : « headspace ».....	77
IV.1.2.2. HE de néroli bigarade synthétique.....	79
IV.1.2.3. Eau distillée de fleur d'oranger.....	81
IV.1.2.3.1. Définition.....	81
IV.1.2.3.2. Mode d'obtention.....	82
IV.1.2.3.3. Différentes catégories d'eau de fleur d'oranger.....	82
IV.1.2.3.4. Caractéristiques de l'eau distillée de fleur d'oranger.....	82
IV.1.2.3.5. Essais.....	82
IV.1.2.3.6. Qualité des eaux de fleur d'oranger.....	83
IV.1.2.3.7. Adulteration des eaux de fleur d'oranger.....	83
IV.1.2.3.8. Conservation.....	83
IV.1.2.3.9. Composition chimique.....	84
IV.1.2.4. Absolue des eaux de fleur d'oranger.....	84
IV.1.2.4.1. Définition - mode d'obtention.....	84
IV.1.2.4.2. Caractéristiques de l'absolue des eaux de fleur d'oranger.....	84
IV.1.2.4.3. Composition chimique.....	84
IV.1.2.5. Absolue de fleur d'oranger.....	87
IV.1.2.5.1. Définition d'une absolue.....	87
IV.1.2.5.2. Mode d'obtention.....	87
IV.1.2.5.3. Propriétés physico-chimiques.....	87
IV.1.2.5.4. Composition chimique.....	87
<i>IV.1.3. HE des feuilles et des produits dérivés.....</i>	<i>95</i>
IV.1.3.1. HE de petitgrain bigaradier.....	95
IV.1.3.1.1. Définition.....	95
IV.1.3.1.2. Dénominations diverses.....	95
IV.1.3.1.3. Mode d'obtention.....	95
IV.1.3.1.4. Identification- Essais.....	96
IV.1.3.1.5. Caractères organoleptiques.....	96
IV.1.3.1.6. Propriétés physico-chimiques.....	96
IV.1.3.1.7. Conservation.....	97
IV.1.3.1.8. Falsification.....	97

IV.1.3.1.9. Composition chimique.....	97
IV.1.3.2. Absolue des eaux de brouts.....	103
IV.1.3.2.1. Définition - Mode d'obtention.....	103
IV.1.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	103
IV.1.3.2.3. Composition chimique (Boelens M.H., et al.).....	104
IV.1.3.3. Absolue de brouts.....	106
IV.1.3.3.1. Définition - Mode d'obtention.....	106
IV.1.3.3.2. Propriétés physico-chimiques.....	107
IV.1.3.3.3. Composition chimique.....	107
<i>IV.1.4. HE des fruits et les produits dérivés.....</i>	<i>109</i>
IV.1.4.1. HE d'orange amère.....	109
IV.1.4.1.1. Définition.....	109
IV.1.4.1.2. Dénominations diverses.....	109
IV.1.4.1.3. Mode d'obtention.....	109
IV.1.4.1.4. Qualité des huiles essentielles d'orange amère.....	112
IV.1.4.1.5. Conservation.....	112
IV.1.4.1.6. Caractères organoleptiques.....	112
IV.1.4.1.7. Caractères physico-chimiques.....	113
IV.1.4.1.8. Composition chimique.....	113
IV.1.4.1.8.1. Fraction volatile.....	113
IV.1.4.1.8.2. Fraction non volatile.....	119
IV.1.4.2. Les huiles déterpénées.....	123
IV.2. CONSTITUANTS AUTRES QUE L'HE PRESENTS DANS LES TROIS ORGANES BOTANIQUES DE L'ORANGER AMER.....	126
<i>IV.2.1. Dans les fleurs.....</i>	<i>126</i>
IV.2.1.1. Hétérosides flavonoïdiques.....	126
IV.2.1.2. Acides aminés.....	128
IV.2.1.3. Stéroïdes.....	128
IV.2.1.4. Molécules diverses.....	129
<i>IV.2.2. Dans les feuilles.....</i>	<i>129</i>
IV.2.2.1. Flavonoïdes.....	130
IV.2.2.2. Composés triterpéniques amers : les limonoïdes.....	131
IV.2.2.3. Bases organiques.....	132
IV.2.2.4. Coumarines (Haggag E.G., et al.).....	133
IV.2.2.5. Stéroïdes.....	134
IV.2.2.6. Acides gras.....	135
<i>IV.2.3. Dans les fruits.....</i>	<i>135</i>
IV.2.3.1. Flavonoïdes.....	135
IV.2.3.2. Composés triterpéniques amers : les limonoïdes.....	137
IV.2.3.3. Acide ascorbique.....	138
IV.2.3.4. Divers acides.....	138
IV.2.3.5. Constituants divers.....	138
IV.3. CONCLUSION.....	138
LES PROPRIETES BIOLOGIQUES DE L'ORANGER AMER.....	140
V.1. ACTION ADRENERGIQUE.....	141
V.1.1. Effet aminéssant.....	141
V.1.2. Effets cardiovasculaires.....	146
V.2. ACTION VEINOTONIQUE – VASCULOPROTECTRICE.....	150
V.3. ACTION ANTIMICROBIENNE.....	151
V.4. ACTIVITE ANTIMUTAGENE.....	153
V.5. EFFETS SEDATIFS ET ANXIOLYTIQUES.....	160
V.6. ACTIVITES ANTI-INFLAMMATOIRE ET ANALGESIQUE.....	166
V.7. CONCLUSION.....	172
LES DIFFERENTS DOMAINES D'UTILISATION DE L'ORANGER AMER ET DE SES PRODUITS D'EXTRACTION.....	174
VI.1. LE DOMAINE PHARMACEUTIQUE.....	175
VI.1.1. Les préparations officinales.....	175
VI.1.1.1. Préparations obtenues à partir de la fleur de bigaradier.....	175
VI.1.1.2. Préparations obtenues à partir du fruit du bigaradier.....	177
VI.1.2. L'alopathie.....	179
VI.1.2.1. L'oranger amer utilisé comme aromatisant.....	179

VI.1.2.2. L'oranger amer utilisé comme principe actif	180
VI.1.2.2.1. Les flavonoïdes.	181
VI.1.2.2.2. Divers produits d'extraction.	186
<i>VI.1.3. La phytothérapie.</i>	<i>186</i>
VI.1.3.1. Les boutons floraux.....	187
VI.1.3.2. Les feuilles.	188
VI.1.3.3. Ecorce des fruits.....	189
VI.1.3.3.1. Emploi sous forme de tisane.	189
VI.1.3.3.2. Spécialités pharmaceutiques.	190
VI.1.3.3.3. Produits para-pharmaceutiques.	191
<i>VI.1.4. L'aromathérapie.</i>	<i>192</i>
VI.1.4.1. Définition : qu'est-ce que l'aromathérapie ?.....	192
VI.1.4.2. Les huiles essentielles du bigaradier en aromathérapie.....	193
VI.1.4.2.1. HE de néroli.....	193
VI.1.4.2.2. L'HE de petitgrain.	193
VI.1.4.2.3. L'HE d'orange amère.	194
VI.1.4.3. Conclusion.	195
VI.2. LES DOMAINES DE LA PARFUMERIE ET DE LA COSMETOLOGIE.	195
<i>VI.2.1. L'HE de néroli bigarade.</i>	<i>195</i>
<i>VI.2.2. L'eau de fleur d'oranger.</i>	<i>196</i>
<i>VI.2.3. L'HE de petitgrain bigarade.</i>	<i>196</i>
<i>VI.2.4. L'HE d'orange amère.</i>	<i>197</i>
VI.3. LE DOMAINE AGRO-ALIMENTAIRE.	197
<i>VI.3.1. Utilisation en confiserie-pâtisserie.</i>	<i>197</i>
<i>VI.3.2. Utilisation comme aromatisant.</i>	<i>197</i>
<i>VI.3.3. Utilisation en liquoristerie.</i>	<i>198</i>
VI.3.3.1. Les apéritifs.....	198
VI.3.3.2. Les liqueurs.....	199
VI.4. USAGES RITUELS.	201
CONCLUSION	202
BIBLIOGRAPHIE	204
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	211
TABLE DES MATIERES	213

Serment de Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 315

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME EN FRANÇAIS

L'oranger amer ou bigaradier, arbuste de la famille des Rutacées est originaire de l'Asie du sud-est. Il a été introduit en Europe au cours des Croisades. Les fruits, très amers ne sont pas comestibles ; mais toutes les parties du bigaradier sont utilisées et, à des fins très diverses : les fleurs, les feuilles, les fruits. Trois huiles essentielles (HE) sont extraites de ces organes botaniques, nommées respectivement HE de néroli, de petitgrain et d'orange amère. Elles sont constituées principalement de terpènes avec une majorité de monoterpènes oxygénés pour les deux premières HE et d'hydrocarbures monoterpéniques pour la dernière HE. A côté de ces HE, les autres constituants sont représentés par des flavonoïdes (principalement des hétérosides de flavanone), de limonoïdes, quelques stéroïdes, des coumarines et divers acides.

Cette composition chimique confère à l'oranger amer un certain nombre de propriétés biologiques : propriétés adrénergique, veinotonique, antimutagène, antimicrobienne, sédative-anxiolytique, et anti-inflammatoire. Néanmoins celles-ci ne sont pas toutes d'égale importance. Certaines ont pu être exploitées par l'industrie pharmaceutique, notamment en phytothérapie ; d'autres (activités antimutagène et anti-inflammatoire) restent encore au stade de l'expérimentation. Cependant l'utilisation du bigaradier ne se limite pas au seul domaine de la pharmacie puisqu'il est également exploité par les industries de la parfumerie-cosmétologie et de l'agro-alimentaire.

TITRE EN ANGLAIS

THE SOUR ORANGE :
CITRUS AURANTIUM VAR. *AMARA* LINK

DISCIPLINE – SPECIALITE DOCTORALE

DOCTORAT D'ETAT EN PHARMACIE

MOTS-CLES

Oranger amer, Rutacées, *Citrus aurantium*, huile essentielle, néroli, petitgrain, orange amère, composés terpéniques, flavonoïdes, veinotonique, sédatif.

LABORATOIRE DE PHARMACOGNOSIE – FACULTE DE PHARMACIE DE LIMOGES
2 rue du Docteur Marcland 87025 LIMOGES Cedex