



**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ «Abbès LAGHROUR» DE KHENCHELA
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE**

Département Sciences de la matière

N° de série :.....

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)

Spécialité : *Chimie analytique.*

Option : *Chimie analytique et environnement.*

L'huile essentielle d'orange : extraction et utilisation en aromathérapie.

*Réalisé par : --Bedghiou Sara
_ Manaa Radhia*

Membres de jury

Président : Djebaili Kenza

Examineur : Badis Zakaria.

Dirigé par : Dr.BENALI .CHERIFE

Présenté le : 15 septembre 2020

REMERCIEMENT

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Il nous sera très difficile de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses personnes que nous avons pu mener ce mémoire à son terme.

Tout d'abord Nous remercions précisément notre très chers parents qui ont le droit de recevoir notre chaleureux remerciements pour le courage et le sacrifice qu'ils ont consentis pendant la durée de notre études en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à mon encadreur Mme Benali Cherif Rim ... Merci d'avoir accepté de diriger ce travail, Merci pour votre encadrement sans faille tout au long du période de réalisation de ce travail. C'est un très grand honneur et un très grand plaisir d'avoir pu faire votre connaissance avant tout...

À l'intérieur du laboratoire, nous avons pu rencontrer de nombreuses personnes et Des gens qui m'ont beaucoup aidé et je les remercie: Bouzidi Nadjwa.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant de le rapporter.

Nous tenons à remercier particulièrement toute la famille pour son soutien moral pendant toutes nos années d'études.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

♥*Merci*♥

Sara & Radhia



Dédicaces

Avec L'aide De DIEU, J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que Je Dédie A:

tout d'abord à mes parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études par leur dévouement et abnégation et pour leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A celui qui a été toujours Mon support dans cette vie, celui qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de reculer... papa que DIEU vous protège

A celle qui était et qui restera mon soutien dans cette vie, à celle qui ma renseigné comment aimer DIEU ; comment fait apparaitre le succès et la prospérité du sein du mal et des problèmes...à vous maman, que DIEU vous protège et vous donne la pleine santé et le plein bonheur du monde, de joie et d'attestations.

A mes très chers frères : Salim , Tetou et Ramzi . spéciale à Tetou .

A ma très chères sœurs : Nawal , kaouther .

À ma partenaire et mes meilleures copines Rdhia:

Pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble ces cinq dernières années.

A tous mes amis

sont sans exception. Pour tous les étudiants de l'Université de Khenchela.

Afin de n'oublier personne, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous ceux qui

Aidez-moi à réaliser cet humble travail.



SARA



Dédicaces

Avec L'aide De DIEU, J'ai Pu Réaliser Ce Modeste Travail Que Je Dédie A:

tout d'abord à mes parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études par leur dévouement et abnégation et pour leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A celui qui a été toujours Mon support dans cette vie, celui qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de reculer... papa que DIEU vous protège

A celle qui était et qui restera mon soutien dans cette vie, à celle qui ma renseigné comment aimer DIEU ; comment fait apparaitre le succès et la prospérité du sein du mal et des problèmes...à vous maman, que DIEU vous protège et vous donne la pleine santé et le plein bonheur du monde, de joie et d'attestations.

A mes très chers frères.

A ma très chère sœur.

À ma partenaire et mes meilleures copines Sara :

Pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble ces cinq dernières années.

A tous mes amis

sont sans exception. Pour tous les étudiants de l'Université de Khenchela.

Afin de n'oublier personne, je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous ceux qui

Aidez-moi à réaliser cet humble travail.



radhia

Liste des figures

Figure 1 : Les familles de plantes d'où l'on peut extraire les huiles essentielles.....	6
Figure 2 : Exemples de structures de composés dérivés du phényle propane.....	10
Figure 3 : Structure chimique de l'aldéhyde cinnamique.....	10
Figure 4 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.....	12
Figure 5 : Schématisation de la technique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau....	13
Figure 6 : Schéma du principe de la technique d'extraction par le CO2 supercritique.....	13
Figure 7 ; Système d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes.....	14
Figure 8 : Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion.....	15
Figure 9 : Schéma descriptif de l'installation d'extraction par solvant volatils.....	16
Figure 10 : Chromatogramme CPG/SM.....	20
Figure 11 : D'oranger (<i>Citrus sinensis</i>).....	23
Figure 12 : Orangers dans un patio.....	24
Figure 13 : <i>L'Oranger</i> , par Jean-Baptiste Oudry, 1740.....	25
Figure14 : Vergers d'orangers, région de Tizi-Ouzou en l'Algérie.....	25
Figure 15 : Part des différents pays producteurs d'orange dans la production mondiale en 2000.....	27
Figure 16 : Coupe transversale d'une orange.....	28
Figure 17 : Oranges précoces douces.....	29
Figure 18 : Orange de Valence.....	29
Figure 19 : Oranges Navel.....	30
Figure 20 : Hybrides d'orange douce.....	30
Figure 21 : Oranges sanguines.....	30
Figure 22 : La <i>Bactérie</i> Escherichia coli.....	35
Figure 23 : La <i>Bactérie</i> S.aureus.....	36
Figure 24 : Localisation des sites de prélèvement.....	42
Figure 25 . Pesée des écorces d'oranges.....	43
Figure 26 . Montage d'hydrodistillation manipulé.....	43
Figure 27 . Etape de chauffage dans la chauffe ballon.....	44

Figure 28. Hydrodistillation terminée.....	44
Figure 29. L'ampoule à décanter.....	45
Figure 30. L'ampoule à décanter.....	45
Figure 31. Huile essentielle d'orange, liquide légèrement jaune et visqueux.....	46
Figure 32. La chromatographie.....	46
Figure 33. Réfractomètre type KRUSS.....	48
Figure 34. Dispositif de mesure d'indice d'acide.....	49
Figure 35. Coupe transversale d'orange.....	52
Figure 36 : Photographies des coupes anatomiques des sites sécréteurs de l'orange douce avec et sans coloration au grossissement (X40).....	52
Figure 37: Profil chromatographique de l'HE de la station D.B.K	53
Figure 38: Effet de l'HE de DBK sur E. coli(ATCC25922), S. aureus (ATCC25923).....	56
Figure 39: Piégeage du radical DPPH.....	58

Liste des tableaux

Tableau 1 : Structures chimiques des différentes classes des terpènes.....	9
Tableau 2 : Informations nutritionnelles sur l'orange.....	26
Tableau 3 :Rendement en HE extraite.....	53
Tableau 4 : composition chimique (%) des HEs de C. Sinensis analysée par la CPG.....	54
Tableau 5 : Zone d'inhibition en (mm) de l'HE de la station DBK.....	56
Tableau 6 : Pourcentage d'inhibitions des HEs et de l'acide ascorbique.....	59

Liste des abréviations :

HE : huile essentielle

CPG: chromatographie en phase gazeuse

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

AFNOR : Association Française de Normalisation

D.B.K :Draa Ben Khedda

RHE : rendement en huile essentielle

T : Température

CMI : concentration minimale inhibitrice

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I

Les huiles essentielles

I- Introduction	3
II-Historique.....	3
III-Définition.....	3
IV-Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles.....	5
V-Critères déterminants la qualité des huiles essentielles.....	6
VI-Le rôle des huiles essentielles chez les végétaux.....	7
VII-Characterisation des huiles essentielles.....	7
VII-Production des huiles essentielles.....	8
X-Composition chimiques des huiles essentielles.....	8
X-I- Les terpènes.....	8
X-2- Dérivés de phényle-propane.....	9
X3-Les molécules diversement fonctionnalisées.....	10
XI-Procédés d'obtention des huiles essentielles	11
XI-1-Principales méthodes d'extraction.....	11
XI-1-1-Extraction par hydrodistillation	11
a)Entraînement à la vapeur d'eau	12
b)Extraction par gaz supercritique.....	13
c) Extraction par micro-ondes	14
d) Extraction par expression à froid	14

e) L'hydrodiffusion.....	15
f) L'expression à froid	15
g) Extraction aux solvants volatils	15
XII-Principaux paramètres d'extraction	16
XII-Propriétés les huiles essentielles	17
XII-1- Propriétés chimiques	17
XII-2- Propriétés physiques	17
XII-3- Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques	17
XII-4- Propriétés antivirales	18
XII-5- Propriétés anti-inflammatoires	18
XII-6- Propriétés cicatrisantes	18
XIII- Principaux domaines d'application	18
XIII- 1-En agro-alimentaire.....	18
XIII- 2- Parfumerie et cosmétique	19
XIII-3- Aromathérapie.....	19
XIII-4-Pharmacie	19
XIII-5-Désinfection des locaux	19
XIV -Analyse des huiles essentielles.....	19
XIV.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	19
XIV.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG-SM)	20

Chapitre II

Présentations de la plante étudiée « fruit d'orange »

I-Introduction.....	23
II-Définition.....	23

III-Description.....	24
IV-Histoire.....	24
V-L'oranger et sa culture.....	25
Composition.....	26
VI-Production.....	26
VII-Caractéristiques.....	27
VIII-Les Variétés.....	28
A- Oranges précoces douces, blondes et oranges communes	29
B-Orange de Valence (variétés juteuses).....	29
C-Oranges Navel	30
C-1-Oranges Navel précoces.....	30
C-2-Navel mi-saison.....	30
C-3-Navel tardives.....	30
D- Hybrides d'orange douce.....	30
E-Oranges sanguines.....	30
E-1- Oranges légèrement sanguines.....	31
E-2- Oranges complètement sanguines.....	31
E-3- Oranges profondément sanguines.....	31
IX-Propriétés.....	31
X-Utilisation.....	31
XI-Conclusion.....	32
 Chapitre III	
Activité biologique	
I-Introduction.....	34
II-Activité antibactérienne	34

II-1-Généralités.....	34
II-2- Culture des bactéries	35
II-3-Les types des bactéries étudiées	35
3-1- Escherichia coli	35
3-2: S. aureus:	36
III-L`activité antioxydant	36
I-1- Les radicaux libres	37
I-2- Les antioxydants	37
1-2-1- Les antioxydants primaires.....	37
1-2-2- Les antioxydants secondaires.....	38
2-Rôles biologiques des radicaux libres	38
3-Source des radicaux libres	38
3-1- Les sources endogènes	38
3-2- Les sources exogènes.....	40
 Partie 2 : Méthodologie expérimentale	
I-Introduction	42
II-Matériel.....	42
II-1- Matière végétale.....	42
II-2-Cueillette de la plante	42
II-3-Préparation de l'espèce végétale pour l'extraction	42
III-Rendement d`huile essentielle.....	46
IV-Conservation de l`huile essentielle.....	47
V-Etude analytique de l`huile essentielle extraite.....	47
V-1-Propriétés organoleptiques	47

V-2- Propriétés physico-chimiques	47
V-2-1- Densité relative	47
V-2-2-Indice de réfraction	48
V-2-3- Indice d'acide	49
Conclusion.....	50

Résultats et discussion

I-Introduction.....	52
II-Etude des sites sécréteurs des huiles essentielles dans l'orange douce.....	52
III-Le rendement	53
IV-Analyse de la composition chimique	53
V-Activité antibactérienne	56
IV-1- Station Drâa Ben Khedda.....	56
IV-3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	58
VI- Activité antioxydant	58
Conclusions.....	61

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

De manière générale, l'extraction des huiles essentielles préalable à l'analyse chimique se compose de deux étapes : l'extraction et l'analyse. Alors que l'étape analytique requiert en général quelques minutes, l'étape d'extraction nécessite plusieurs heures. C'est le cas de la méthode de Clevenger, inventée en **1928**[1], qui est la procédure de distillation de référence. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. Bien que très efficace et largement acceptée par la communauté scientifique, la distillation selon Clevenger présente néanmoins plusieurs inconvénients. Les plus significatifs sont les longues procédures d'extraction requises et les grands volumes d'eau consommés.

Une première partie de ce mémoire est consacrée aux fondements et considérations théoriques découlant des procédés conventionnels et innovants d'extraction des molécules aromatiques. Nous avons aussi décrit l'étude des matrices végétales contenant les huiles essentielles. Ces dernières années un intérêt accru a été porté pour les molécules naturelles bioactives comme source potentielle pouvant constituer une alternative aux produits de synthèse. A cet effet, les huiles essentielles d'agrumes et de Romarin comptent parmi les plus étudiées.

Dans un second temps, le matériel utilisé, la démarche expérimentale et les méthodes employées à l'égard des investigations seront décrits.

La troisième partie de ce manuscrit relève des résultats, de leur discussion, et des techniques employées afin de proposer une procédure innovante pour la détermination des huiles essentielles dans les matrices végétales. Cette dernière partie s'articule selon trois sections distinctes : dans un premier chapitre, la mise au point, l'optimisation et l'application du nouveau dispositif de laboratoire, permettant un dosage rapide des huiles essentielles dans les matrices végétales seront discutées. L'originalité de l'appareillage réside en une extraction rapide, non destructrice et généralisable à une multitude de matrices végétales qui sera discutée dans un second chapitre. Enfin, la compréhension du phénomène mis en jeu dans l'extraction des huiles essentielles et l'approche écologique apportée par l'invention, ainsi qu'une alternative aux méthodes d'extraction usuellement employées pour les huiles essentielles, fera l'objet d'un troisième et dernier chapitre.

Chapitre I :

Les huiles essentielles



I. INTRODUCTION

Selon Chutia *et al.* (2006), il a été prouvé que les huiles essentielles (HEs) de certaines usines étaient des agents de biocontrol respectueux de l'environnement. De plus, les HEs de *citrus* sont des mélanges complexes de différents composés qui ont montré un large spectre d'activités biologiques telles que des activités antioxydantes (Misharina et Samusenko, 2008), anti-inflammatoires, anxiolytiques (DeMoaesPultrini *et al.*, 2006), antimicrobiennes (Jafari *et al.*, 2011) et antifongiques (Chutia *et al.*, 2009). Ces activités biologiques peuvent revêtir une grande importance dans plusieurs domaines, de la chimie alimentaire à la pharmacologie en passant par la pharmacie (Cristani *et al.*, 2007).

II. Historique :

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques [2]

A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée. [3]

III. Définitions :

Une huile essentielle peut être définie comme un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'une végétale pour un alchimiste. Mais dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela car il s'agit d'un produit parfumé et volatil composé de molécules secrétées par certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifiques. Le terme volatil s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement. [4]

Selon, [5] les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques unes sont solides ou en partie cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier.

Les huiles essentielles se trouvent, pour la plus grande partie, élaborées par l'organisme végétal [6] ; mais il en est (telles que les essences d'amande et de moutarde) qui ne prennent naissance qu'au moment où les parties végétales sont mises au contact de l'eau [7].

D'après Naves (1976), aucune des définitions des HE n'a le mérite d'être claire, ni précise. Les HE sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau.

Cette définition peut être étendue aux HE obtenues par expression à froid de l'écorce ou zeste des fruits de Citrus, à cause de l'intervention de l'eau dans les procédés mécaniques pour entraîner le produit libéré des alvéoles oléifères. La nouvelle Encyclopédie Funk & Wagnalls (2004) décrit les huiles essentielles comme les « liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales et minérales. Elles sont habituellement non huileuses au contact de la peau. Leurs composants peuvent être regroupés en six classes selon leur structure chimique :

- a) Les hydrocarbures, tel que le limonène dans l'huile de citron;
- b) Les alcools, tel que le bornéol dans le camphrier de Bornéo;
- c) Les esters, tel que le salicylate de méthyle dans l'huile de wintergreen;
- d) Les aldéhydes, tel que l'aldéhyde benzoïque dans l'huile d'amandes amères;
- e) Les cétones, telle que la menthone dans l'huile de menthe poivrée;
- f) Les lactones et oxydes, telle que la coumarine des haricots de Tonka. »

L'Association Française de Normalisation (**AFNOR, Edition 2000**), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Bruneton (1993, 1999), définit les termes les plus couramment utilisés dans ce domaine, tels que :

- Pommade florale : Corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs, soit par enfleurage à froid, soit par enfleurage à chaud.
- Résinoïde : Extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine naturelle, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux.
- Absolue : Produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un Résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires.

IV. Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont repartis dans un nombre limité de familles, tel que Rutacées, Lamiacées, Poacées, Zingibéracée, Pipéracées, ... etc.[8]. On les trouve parfois dans les pétales des fleurs (rose), les feuilles (eucalyptus), le bois (santal), l'écorce des fruits (citron), les graines (cumin), les racines (sassafras), les rhizomes (gingembres), la résines (sapin), la gomme (encens) [9]. D'après Bruneton (1999), la synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées: souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante.



Figure1 : Les familles de plantes d'où l'on peut extraire les huiles essentielles.

V. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles :

[10] a rapporté que les critères définissant la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

- a) la sélection de la plante qui est tributaire du genre et de l'espèce botanique ;
- b) Le chémotype (chimiotype) représentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique, de la photopériode.... ;
- c) la partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE ;
- d) la période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale ;

e) la conservation des huiles essentielles : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants.

VI. Le rôle des huiles essentielles chez les végétaux :

La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1 % [11]. Les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines. Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. En effet, étant fixées au sol elles n'ont que les composés chimiques issus du métabolisme secondaire, stockés à l'endroit où ils seront le plus utiles comme arme de défense contre les parasites et les prédateurs. Les plantes possédant ces composés toxiques, qualifiés de phagodétérants ou d'inappétants, sont moins consommées [12].

De façon générale, les terpénoïdes jouent un rôle fondamental dans les interactions entre les organismes vivants, permettant par exemple à une plante d'attirer les pollinisateurs, ou les prédateurs ou les parasitoïdes des herbivores venant l'attaquer [13]. C'est en particulier ce dernier rôle qui donne toute son importance à une stratégie bioinspirée de recherche de composés antifongiques, antibactériens ou bioinsecticides parmi les métabolites secondaires, et en particulier les huiles essentielles [14].

VII. Caractérisation des huiles essentielles :

De nombreux facteurs peuvent modifier les essences provenant du végétal. Les huiles essentielles sont des composés très altérables car ils renferment des composés oxydables sous l'action de l'air et de la lumière. Ils s'altèrent en se résinifiant, ce qui entraîne une modification de leur parfum, leur saveur et leurs constantes physiques et chimiques en les rendant impropres à l'utilisation. La normalisation des huiles essentielles concerne :

- Les propriétés organoleptiques : odeur, couleur, aspect, saveur ;
- Les caractéristiques chimiques : indice d'acide et d'ester ;
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants.

VII. Production des huiles essentielles :

A l'échelle mondiale, la production des huiles essentielles est d'environ 30 tonnes par an. Les principaux pays producteurs sont les Etats-Unis, la Chine, le Maroc, la Bulgarie, l'Inde, la France, l'Egypte et l'Espagne. L'Algérie se hisse à la 10ème place avec 8000 dollars de capitaux générés par l'exportation d'huile essentielle, à la fin des années 70 [15] Djeddi (2012) affirme que les huiles essentielles exportées par l'Algérie provenaient soit des cultures familiales ou des plantes spontanées, tels que la menthe, le jasmin, le rosier, le géranium, la lavande, le romarin, l'origan, le thym, la sauge...Actuellement, la production d'huiles essentielles est limitée à quelques producteurs privés artisanaux qui ne subvient pas au marché national.

X. Composition chimiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle-propane, beaucoup moins fréquents, [16]

X.1. Les terpènes :

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart des cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Les constituants des huiles essentielles sont très variés. On y trouve en plus de terpènes ; des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres [17].

Tableau 1: Structures chimiques des différentes classes des terpènes [18]

Classe	MONOTERPENES			SESQUITERPENES		
	Acyclique	Monocyclique	bi cyclique	Acyclique	Monocyclique	bi cyclique
Carbure	 Myrcènes (Laurier)	 Limonène (Orange)	 Pinène (Terebenthine)	 Sesquictronellène (Citron)	 Curcumène (Curcuma aromatique)	 Cadinène (Goudron de cade)
Cétone	 Tagétone	 Menthone (Menthe poivrée)	 Camphre (Camphrier)	—	 Atlantone (Cèdre)	 Vetivone (Vetivrier)
Aldéhyde	 Citral (Citron)	 Safranal (Safran)	 Myrtenal (Camphre)	 α-Sinrénal (Orange)	—	—
Alcool	 Nerol (Citron)	 Menthol (Menthe)	 Borneol (Sauge)	 Farnésol (Tilleul)	 α-Bisabotol (Camomille Allemande)	 Carotol (Carotte)

X.2. Dérivés de phényle-propane :

Les dérivés du phényle-propane (C₃, C₆) sont beaucoup moins fréquents que les terpènes, [19] leur formation suit une voie biosynthétique dite de l'acide shikimique conduisant essentiellement à la synthèse de la lignine [20].

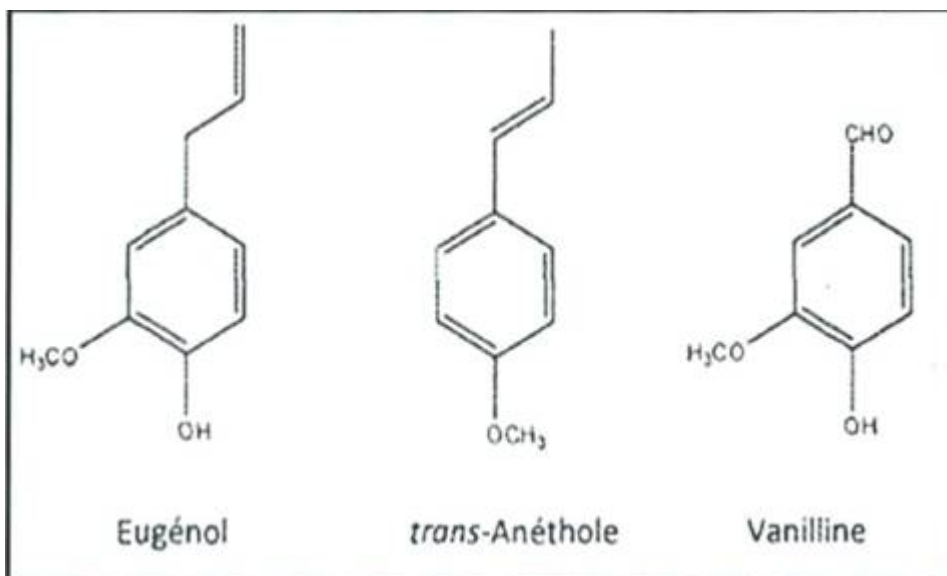


Figure2: Exemples de structures de composés dérivés du phényle propane.

Les dérivés du phényle propane sont important aussi bien quantitatif que qualitatif par exemple:

- ❖ La trans-anéthol, est la molécule responsable de l'arome d'anis et constitue environ 80 % de l'huile essentielle de badiane de chine [21]

L'aldéhyde cinnamique (**fig.2**) responsable du parfum de la cannelle, représente 60-70 - % de l'essence de son écorce [22]



Figure3: Structure chimique de l'aldéhyde cinnamique [23]

X.3. Les molécules diversement fonctionnalisées :

En plus de la diversité terpénique et du phényle-propane, il existe d'autres molécules odorantes qui peuvent intervenir dans la constitution de certaines huiles essentielles, telles que l'alcool cinnamique, benzaldéhyde, les coumarines volatils et les flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

XI. Procédés d'obtention des huiles essentielles :

Existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction [24]

XI.1. Principales méthodes d'extraction :

Il existe plusieurs méthodes de distillation dont voici les principales:

XI.1.1 extraction par hydrodistillation :

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur.

Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation [25].

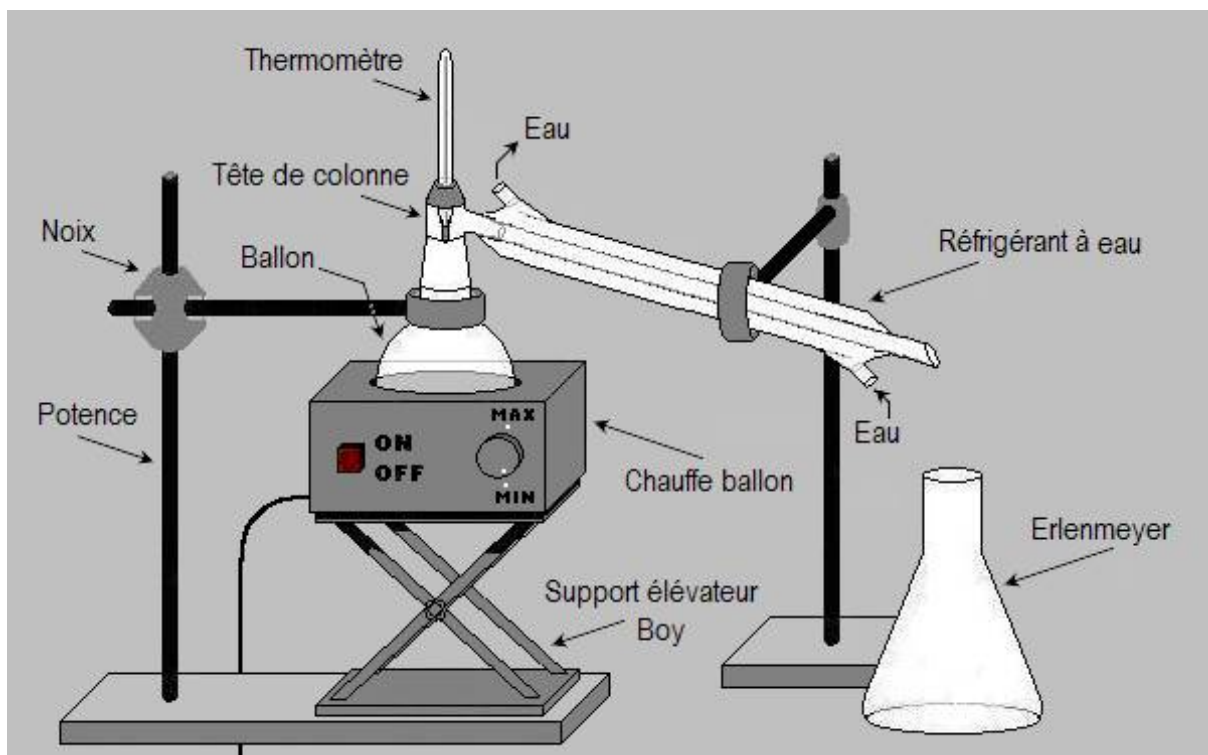


Figure4: Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation [26]

a) Entraînement à la vapeur d'eau :

C'est le plus ancien des procédés d'extraction des huiles essentielles à partir des végétaux (**fig.5**). Il est basé sur le fait que la plus part des composés odorant volatiles sont susceptible d'être entraîné par des aérosols de vapeur d'eau du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe [27].

Ce procédé à été considéré par plusieurs auteurs comme un des cas particuliers de la distillation des mélanges liquides dont les constituant sont; soit complètement insoluble (eau et huile), soit complètement soluble (huile essentielle comme un mélange de plusieurs constituant) ou encore particulièrement soluble (eau contenant des trace de huile ou huile contenant des traces d'eau).

L'entrainement de huile essentielle par la vapeur d'eau est en réalité un processus de transfère des matières beaucoup plus complexe. Cette complexité est du au fait que les dépôts des huile essentielles des végétaux sont différents de par la nature et de leur localisation et dont la plus pars des cas le contacte entre la vapeur et l'huile est empêché [28]

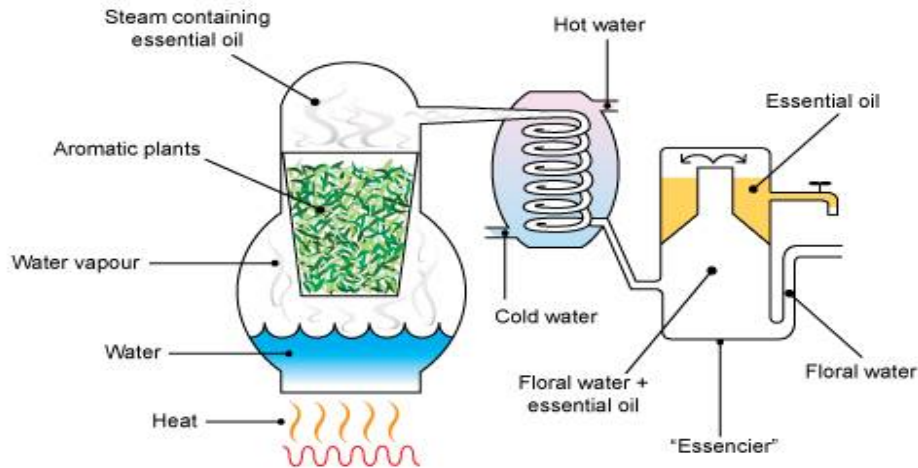


Figure5: Schématisation de la technique d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau [27]

b) Extraction par gaz supercritiques :

Extraction par fluides supercritiques a pris ces dernières années. Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction (**fig6**). En outre tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydations ou isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est réduit. Toutefois, cette technique d'extraction présente un inconvénient la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui le solvant d'extraction le plus employé. Au-delà du point critique ($P = 73.8$ bars, $T^{\circ} = 31.3$ C°. Le CO₂ possède les propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz. Ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction.. [29].

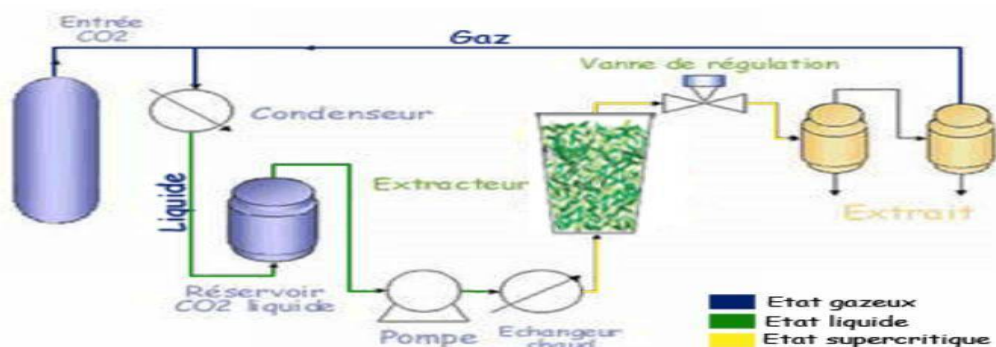


Figure6: Schéma du principe de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique [30].

c) Extraction par micro-ondes :

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Ce procédé livre un produit souvent de qualité supérieure par rapport à celui obtenu par hydrodistillation [31]. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. L'extraction par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée (fig7) [32].

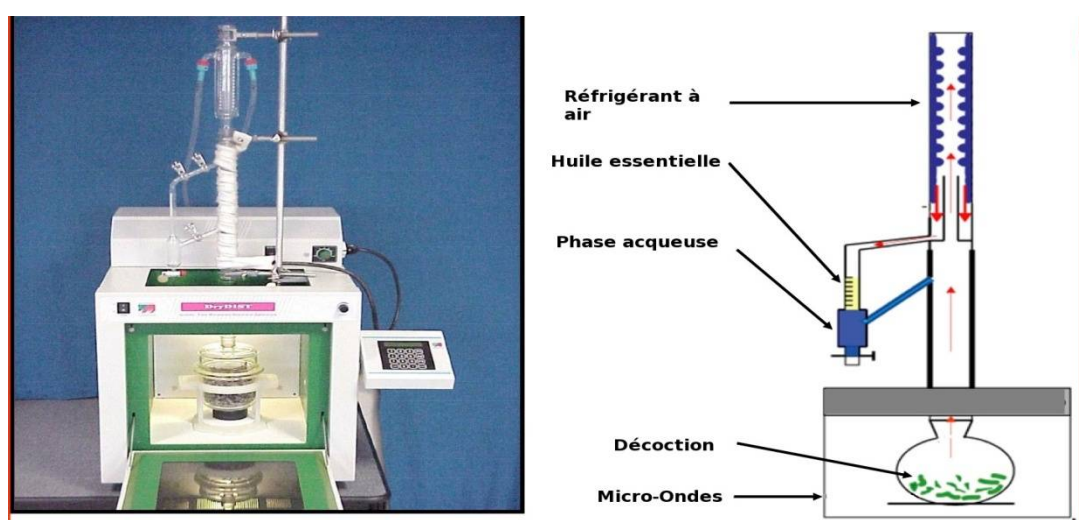


Figure 7 : Système d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes [33]

d) Extraction par expression à froid :

Cette technique s'applique uniquement aux huiles essentielles d'agrumes (hespéridés) - telles que citron, orange douce et amère etc....

En effet, ces huiles essentielles ne supportent pas le traitement à chaud. Leur extraction de péricarpe frais des agrumes s'effectue par différents modes d'expression.

Généralement c'est le procédé de qualification mécanique est entraînement de huile essentielles par un courant d'eau qui est utilisé dans l'industrie. L'essence est ensuite séparée par décantation [34]

e) L'hydrodiffusion :

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie [35]

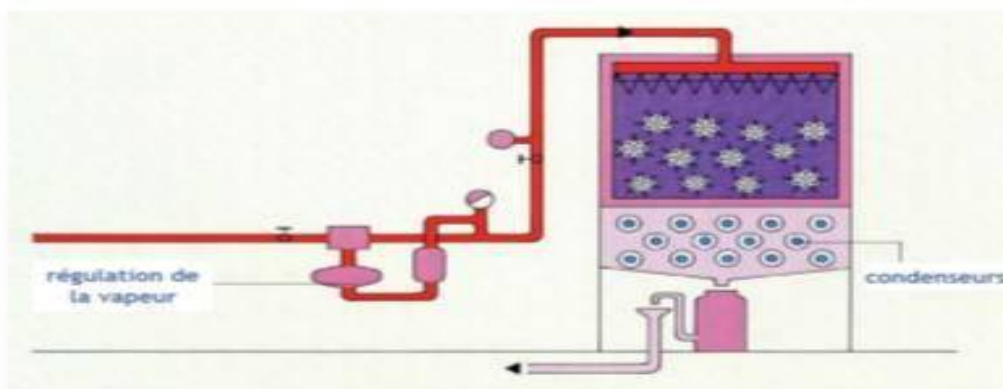


Figure8: Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion

f) L'expression à froid :

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'encore des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence.

Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique [35]

g) Extraction aux solvants volatils :

Elle se fait à l'aide de solvants organiques volatils dans des appareils appelés extracteur de Soxhiet (**fig.9**). On obtient des huiles concrètes avec des solvants volatils tels que l'hexane qui est le plus utilisé actuellement, auparavant on utilisait le benzène, mais par raison de toxicité il a été interdit.

Ce procédé consiste à épuiser la matière végétale de ses constituants odorants au moyen d'un solvant, puis le séparer de l'extrait par un séparateur (Rotavapor) ceci est lié à la propriété des huiles essentielles d'être solubles dans la plupart des solvants organiques particulièrement les hydrocarbures aliphatiques (hexane, éther de pétrole,...) qui sont les plus utilisés [36]

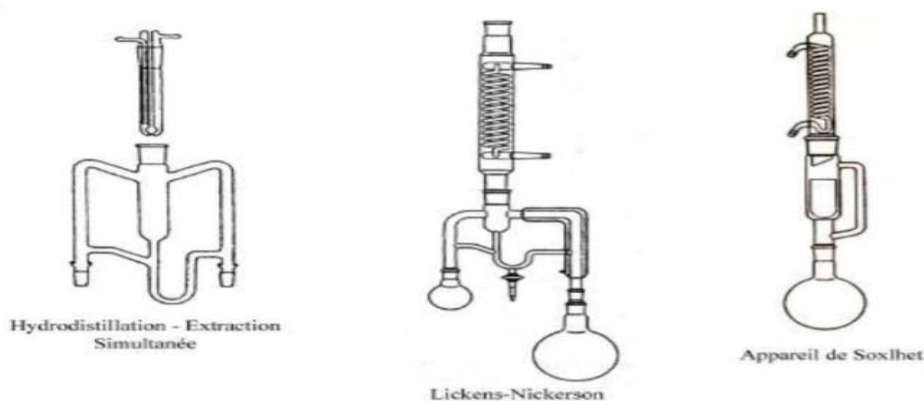


Figure 9: Schéma descriptif de l'installation d'extraction par solvant volatils [27]

Le principe d'extraction par solvant volatil est représenté par une extraction solideliquide qui est une opération de transfère au d'échange de matière entre une phase solide, la matière à extraire, et une phase liquide qui est le solvant d'extraction [37]. En effet, le choix de solvant d'extraction est un paramètre important, car si l'extraction par solvants volatiles est une méthode de plus en plus utilisée de nos jours, il n'en demeure pas moins que le choix de solvant approprié est souvent délicat et pose des problèmes vu les critères auxquels il doit répondre [38].

XII. Principaux paramètres d'extraction :

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;
- La solubilité ;
- La taille et la forme des molécules constitutives ;
- L'adsorption.

XII. Propriétés les huiles essentielles :

XII.1. Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles possèdent certaines propriétés communes:

- ❖ Chaque classe chimique est étroitement liée à une réponse thérapeutique précise;
- ❖ Les composés aromatiques ne sont pas immuables pour une même plantes;
- ❖ Différentes facteurs tels: l'ensoleillement l'altitude et la composition du sol peuvent influencer sur la biosynthèse végétale;
- ❖ Les huiles essentielles peuvent s'altérer à l'air et à la lumière [39].

XII.2. Propriétés physiques :

Les huiles essentielles possèdent un certains nombre des propriétés physiques très connus, qui sont les suivants:

- ❖ Pouvoir intense de diffusion et de pénétration;
- ❖ Pouvoir rotatoire dû a la présence des molécules asymétriques;
- ❖ Généralement liquide à la température ambiante alors quelle sont volatiles à température élevée;
- ❖ Elles sont peut solubles dans l'eau;
- ❖ Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels dans les graisses - (liposolubles)
- ❖ Elles ne sont grasses au touché;
- ❖ Elles sont solubles dans les huiles végétales minérales.
- ❖ Elles ont généralement une densité inférieure de celle de l'eau ($d < 1$) les huiles essentielles des girofles ou des cannelles constituent des exceptions);
- ❖ Elles sont incolores à jaune pale mais il existe toute fois des exceptions [27]

XII.3. Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques :

Les huiles essentielles peuvent rendre stériles une culture de microbes signe d'une activité antiseptique, elles peuvent tuer les bactéries (effet bactéricides) ou arrêter leurs proliférations (effet bactériostatique). Certaines d'entre eux ont un pouvoir antifongique tel que les huiles essentielles de thym, d'arbre à thé, de citron ou de la lavande. En effet, le pouvoir d'action des huiles essentielles ne s'affaiblit pas dans le temps [40]

XII.4. Propriétés antivirales :

Les virus sont très sensible aux molécules aromatiques contenue dans les huiles essentielles ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certain pathologie virales. Les huiles essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination de mucus tout en stimulant le système immunitaire. A titre d'exemple, pour lutter contre les virus en utilise en application sur le corps ou en diffusion dans l'air l'huile d'arbre à thé, de thym, d'eucalyptus, de romarin ou de lavande [41]

XII.5. Propriétés anti-inflammatoires :

Les aldéhydes contenue dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations. La menthe poivrée est en mesure d'anesthésier les douleurs au niveau des cranes. Le clou du girofle calme les douleurs dentaire et le thym agit au niveau de coude tandis que la citronnelle, le romarin ou l'eucalyptus sont efficace en cas de pique d'insectes [42]

XII.6. Propriétés cicatrisantes :

Les huiles essentielles présentes des propriétés cicatrisantes connue depuis l'antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés, en effet, elles ont le pouvoir de régénéré les tissus qui ont été abimés et de favoriser la cicatrisation des blessures [43]

Les huiles essentielles de géranium, de citronnelle, de menthe ou de lavande diffusées dans l'air sont efficaces pour protéger des attaques des insectes, en particulier des moustiques. Elles tiennent à distance tous ces petits indésirables (poux, mites...), mais pour une protection plus sure, il vaut mieux les appliques directement sur le corps (elles devront alors être diluées) ou sur les vêtements [44]

XIII. Principaux domaines d'application :

XIII.1. En agro-alimentaire :

Les HE constituent un élément primordial dans l'industrie agro-alimentaire, elles assurent le gout et l'arome pour ces qualités gustatives et servent aussi à aromatiser les confiseries et entrent dans la préparation des boissons alcoolisées, produits laitiers, produits carnés soupes [45].

XIII.2. Parfumerie et cosmétique :

La majorité des produits cosmétiques contiennent une certaine qualité d'HE comme élément parfumant, il serait probable que ces essences servent à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréabl

La présence d'HE dans les préparations pour bain grâce à la possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques [46]

XIII.3. Aromathérapie :

Les HE constituent le support du traitement des maladies par les essences des plantes ou aromathérapie. La masso-Kinésithérapie, l'ostéopathie, la podologie, l'acupuncture, la rhumatologie, l'esthétique, etc.... sont autant de formes thérapeutiques médicale qui utilisent les huiles essentielles en baume, en huile de coup et en huile de bain, on notera la présence d'huile essentielle dans la préparation de bain calmant, relaxants, tonifiants, On observe dans ce cas une absorption percutanée des constituants terpéniques [47]

XIII.4. Pharmacie :

Les HE ont un grand intérêt en pharmacie .Elles s'utilisent sous la forme de préparation galénique et dans la préparation d'infusion (Verveine, thymie, menthe....)[48]. Ces essences par une action antitoxiques s'opposent à la vie en bloquant certaines fonctions métaboliques des germes comme l'arrêt de la croissance et la multiplication [49], elles s'emploient pour leurs propriétés aromatisants pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale [50]

XIII.5. Désinfection des locaux :

En milieu hospitalier, les HE deviennent un matériel intéressant pour la désinfection préventive a du fait de la complexité de leur composition chimique et de l'originalité de leurs activités antimicrobiennes [51].

XIV Analyse des huiles essentielles :

XIV.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode analytique chromatographique efficace, qui fournit d'excellentes séparations de mélanges quelque peu complexes dans un laps de temps raisonnable. Son principal inconvénient est qu'elle ne convient pas à tous les

mélanges, car l'analyse dépend toujours de la volatilité et de la stabilité thermique des molécules étudiées. Cependant, la CPG est l'outil de choix pour l'étude et le contrôle de la qualité des constituants volatils d'un mélange complexe. D'autre part, la CPG permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. C'est une technique d'analyse quantitative qui fournit d'une part, le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé et qualitative sur la base des temps de rétention .

XIV.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG-SM) :

Depuis les années 1950, cette méthode de couplage CPG-SM n'a cessé d'évoluer et a trouvé de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire, des produits pétroliers, de la parfumerie, des cosmétiques et de la médecine.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés

en fonction de leur rapport masse sur charge des différents constituants d'un mélange complexe [53]



Figure 10: Chromatogramme CPG/SM

Deux modes d'ionisations sont utilisés pour l'analyse des molécules vaporisables :

Le premier est l'ionisation par impact électronique (IE) qui consiste en la formation d'ions positifs à partir d'un ion moléculaire M^+ obtenu par interaction entre la vapeur d'un échantillon de masse M et un courant d'électrons (émis par un filament chauffé) accéléré sous vide et sous une différence de potentiel de 70 à 100 eV. Les ions positifs ainsi formés constituent le spectre de masse du composé [54]. Le second est l'ionisation chimique (IC) qui a été utilisée pour l'identification des constituants des huiles essentielles. Il s'agit d'un mode d'ionisation « plus doux » (15 eV). L'ionisation chimique comprend l'ensemble des réactions ions-molécules entre les molécules de l'échantillon en phase gazeuse et les ions d'un plasma obtenus à partir d'un gaz réactif.

Cette technique a trouvé de nombreuses applications chimiques et biochimiques dans les domaines de l'environnement et du médical. Le grand avantage de cette technique est sa flexibilité.

Conclusion

L'huile essentielle est le produit noble d'une plante aromatique (**Grosjean, 2015**) et son parfum (**Lardry et Haberkorn, 2007**). Les huiles essentielles peuvent être élaborées par tout organe végétal de la plante (graines, feuilles, brindilles, fleurs, écorces, herbes, bourgeons, bois, racines et fruits) (**Bakkali et al., 2008**). Elles sont définies selon **la pharmacopée Européenne en (2010)** comme étant «des substances odorantes, généralement de composition complexe renfermant des principes volatils, obtenues à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques: soit par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche, ou bien par un procédé mécanique approprié sans chauffage» sont plus ou moins changés au cours de la préparation.

Chapitre II :
Présentations de la plante
étudiée « fruit d'orange »



I. introduction

Membre du genre Citrus, l'oranger est un agrume originaire d'Asie du Sud-est. Cet agrume a vraiment tout pour plaire ! Avec sa floraison odorante, ses fruits juteux et son feuillage persistant, il fut introduit en Europe par les Arabes au Moyen Age. Découvrez tous nos conseils pour cultiver l'oranger (*Citrus sinensis*). L'oranger résulte d'un croisement entre le mandarinier (*Citrus reticulata*) et le pamplemoussier (*Citrus maxima*) et donne des fruits appelés oranges, de couleur... orange ! L'arbre atteint une hauteur comprise entre 5 et 10 mètres. L'oranger (*Citrus Sinensis*) possède des fleurs blanches ainsi que de nombreuses feuilles d'un vert profond et foncé mesurant entre 4 et 10 centimètres de long. La période de récolte des fruits diffère en fonction de la variété d'oranger choisie. L'oranger peut être centenaire, mais il a une longévité moyenne de 30 à 40 ans.



Figure 11 :D'oranger (*Citrus sinensis*)

II. Définition

Est une espèce d'arbustes fruitiers de la famille des Rutacées. Cultivé dans les régions chaudes, comme les pays méditerranéens par exemple, cet hybride ancien est probablement un croisement entre le pamplemousse et la mandarine. Ses fruits sucrés et comestibles sont les oranges [55].



Figure 12. Orangers dans un patio (Hospital y Basílica de San Juan de Dios, été 2007).

III. Description.

L'orange est le fruit comestible de l'oranger . Comme son nom l'indique, elle est en Europe de couleur orange. Il s'agit, en terme botanique, d'une baie qui possède une peau épaisse et assez rugueuse. Elle se découpe en quartiers comme sa cousine la mandarine. L'orange est un fruit juteux, sucré, excitant et il contient de la vitamine C. On utilise ce fruit pour les salades de fruits, les confitures, ou pour consommer son jus.

Les oranges sanguines tirent leur nom de la couleur totalement ou partiellement rouge de leur chair. Cette coloration est due à la présence d'anthocyane, dont la synthèse démarre chez certaines espèces quand elles subissent un coup de froid. Les anthocyanes de l'orange sont à l'origine bleues mais virent au en rouge présence de l'acidité de l'orang[56].

IV. Histoire.

L'oranger (*Citrus sinensis*) est originaire de Chine. On peut distinguer deux grandes routes de pénétration de ce fruit en Europe. La route méditerranéenne fut empruntée, à l'époque des croisades (XIe siècle-XIIIe siècle), par l'orange amère ou *bigarade* : transmis par les Perses aux Arabes, ce fruit fut implanté en Andalousie, Sicile et Pays valencien, d'où il se diffusa vers le reste de l'Europe. Dans un second temps, à la fin du XVe siècle, les navigateurs portugais découvrirent l'orange douce en Chine et dans l'île de Ceylan, et la rapportèrent en Europe ; son succès finit par évincer l'orange amère.

Jusqu'à la première moitié du XX^e siècle, l'orange était un fruit de luxe, et souvent offert comme cadeau de Noël et Saint-Nicolas (Pays-Bas) aux enfants. Sa culture en bac a longtemps été un symbole de pouvoir pour les aristocrates qui lui dédiaient des bâtiments spécialisés : les orangeries.

Au 17^{ème} siècle, son appellation était Orange du Portugal, Orange douce et le plus populaire Orange de la Chine. Depuis, son nom scientifique est devenu *Citrus sinensis* (agrume chinois). Elle représente l'espèce commerciale de *Citrus* la plus importante dans le monde [57].



Figure 13. *L'Oranger*

V. L'oranger et sa culture.

D'une hauteur de 2 à 3 m et d'une durée de vie de 300 à 400 ans, les orangeries prospèrent dans les régions tempérées disposant d'un hiver doux. Ils ont besoin de beaucoup de soleil, de chaleur et d'eau. La différence de température entre l'été et l'hiver et entre le jour et la nuit est importante pour le développement correct de la saveur et de la couleur [58].



Figure 14. Vergers d'orangers, région de Tizi-Ouzou en l'Algérie

Composition.

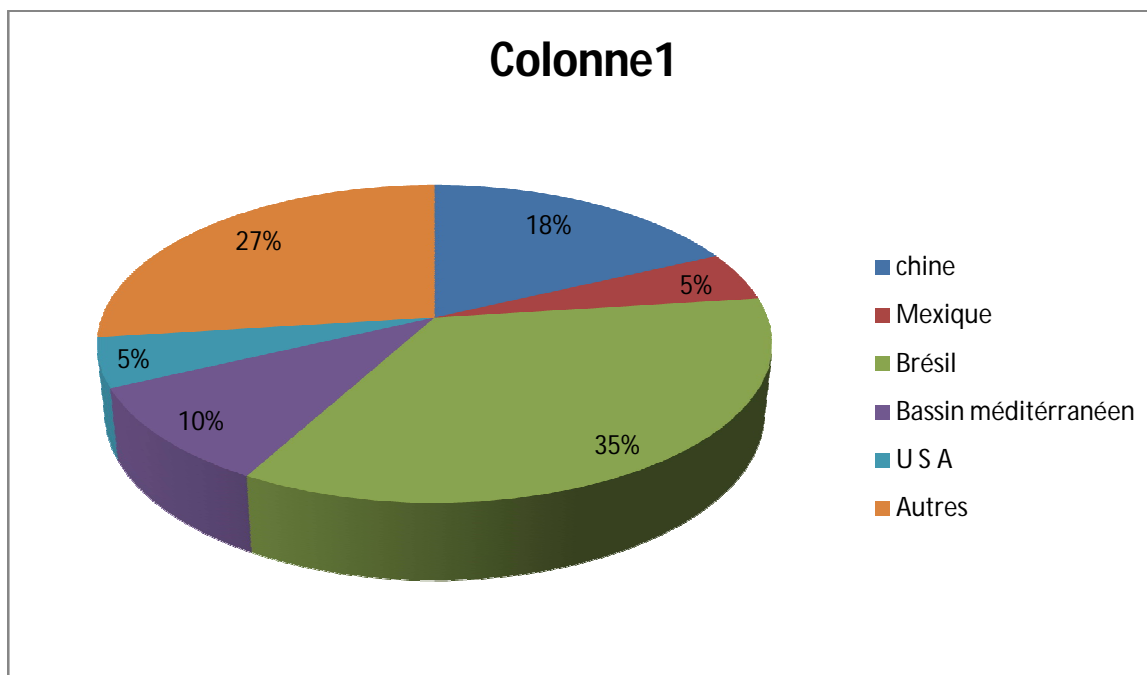
L'orange contient en moyenne 12 % de glucides (40% de saccharose), de la vitamine C (80mg/100g), vitamines P, B1, B9, E, provitamine A. Riche en calcium (40 mg /100 g), riche en pectines, elle a un rôle de régulateur du transit intestinal. Elle contient une flore mésophile (levures et lactobacilles) indispensable pour une bonne digestion [59].

Tableau 2 : Informations nutritionnelles sur l'orange .

Orange crue (valeur nutritive pour 100 g)			
eau : 86,75 g	cendres totales : 0,44 g	fibres : 2,4 g	valeur énergétique : 47 kcal
glucides : 11,75 g	sucres simples : 9,35 g	protéines : 940 mg	lipides : 120 mg
oligo-éléments			
potassium : 181 mg	calcium : 40 mg	phosphore : 14 mg	magnésium : 10 mg
fer : 100 µg	zinc : 70 µg	cuivre : 45 µg	sodium : 0 mg
vitamines			
vitamine C : 53,2 mg	vitamine B1 : 87 µg	vitamine B2 : 40 µg	vitamine B3 : 282 µg
vitamine B5 : 250 µg	vitamine B6 : 60 µg	vitamine B9 : 0 µg	vitamine B12 : 0 µg
vitamine A : 225 UI	rétinol : 0 µg	vitamine E : 0,18 µg	vitamine K : 0 µg
acides gras			
saturés : 15 mg	mono-insaturés : 23 mg	poly-insaturés : 25 mg	cholestérol : 0 mg

VI. Production.

La production d'orange représente 63% de la production mondiale d'agrumes et 95% de la production brésilienne d'agrumes. Les Etats-Unis et le Brésil produisent a eux seuls 52% de la production mondiale d'orange (34% pour le Brésil et 18% pour les Etats-Unis) (FAO, 2001). La production mondiale d'orange n'est pas homogène et se distribue entre un nombre restreint de pays producteurs [60] (**Figure 15**).



Bassin mediterraneen : Espagne, Grece, Italie, Maroc

Figure 15. Part des différents pays producteurs d'orange dans la production mondiale en 2000

VII. Caractéristiques.

Tous les fruits des citrus cultivés ont presque la même structure : l'écorce, partie non comestible du fruit est peu développée chez les oranges, les mandarines et les clémentines. Elle constitue en revanche la majeure partie du fruit des cédrats ou du pamplemousse. La pulpe, partie comestible, est constituée de poils ou de vésicules enfermant le jus et qui sont regroupés en quartiers pouvant varier de 5 à 18 [61].

A la surface des fruits dans l'écorce se trouvent les glandes oléifères remplies d'huiles essentielles. La coupe transversale du fruit permet de distinguer les parties suivantes

(Figure 16)

- Une peau ou une écorce rugueuse, résistante, de couleur vive (du jaune à l'orange), plus connue sous le nom d'épicarpe (ou *flavedo*), qui recouvre le fruit et le protège des dommages. Ses glandes oléifères contiennent des huiles essentielles qui donnent au fruit son odeur caractéristique.

- Un mésocarpe (ou *albedo*) blanc, épais et spongieux, qui forme avec l'épicarpe, le péricarpe ou peau du fruit.

- La partie interne, constituée de la pulpe, est divisée en segments (carpelle) où se concentre le jus (avec ou sans pépins selon les variétés) et en une enveloppe radiale épaisse (ou endocarpe). Cette partie, riche en sucres solubles, renferme des quantités significatives de vitamine C, de pectine, de fibres, de différents acides organiques et de sel de potassium, qui donnent au fruit son acidité caractéristique [60].

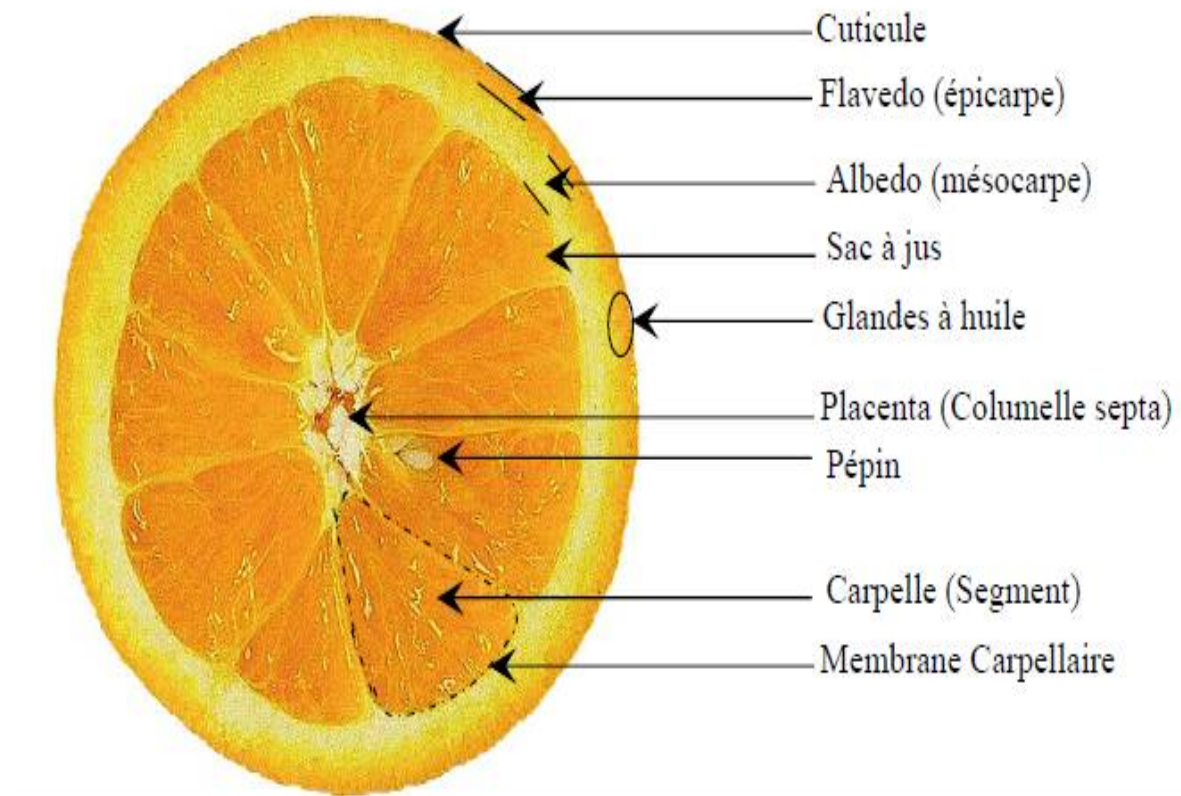


Figure 16. Coupe transversale d'une orange [60].

VIII. Les Variétés.

L'une des plantes à agrumes les plus répandues et les plus recherchées est l'orange. Ses fruits sont connus depuis l'Antiquité et sont largement utilisés dans le monde moderne. Les types de fruits tels que l'orange sont variés. Un grand nombre de variétés différentes de cette plante fruitière. Tous ont leurs propres caractéristiques, propriétés utiles et qualités.



D'après la nouvelle classification des agrumes, il y a 5 groupes d'oranges douces :

A – Oranges précoces douces, blondes et oranges communes :

Ambersweet, Berna, Cadenera, Castellana, Comuna, Hamline, Jaffa (Jaffa de Florida), Jincheng, Mars, Parson Brown, Pineapple (pomme de pin), Rotuna Island, Salustiana, Shamonti (Jaffa de Palestine), Trovita.



Figure 17. Oranges précoces douces [55].

B – Orange de Valence (variétés juteuses) :

Valencia, Campbell Valencia, Valencia Panachées Cotidan, Cutter Valencia, Delta Valencia, Dom Joao, Frost Valencia, Harward Late Valencia, Midnight Valencia, Olinda Valencia, Valencia Late.



Figure 18. Orange de Valence [55] .

C – Oranges Navel :

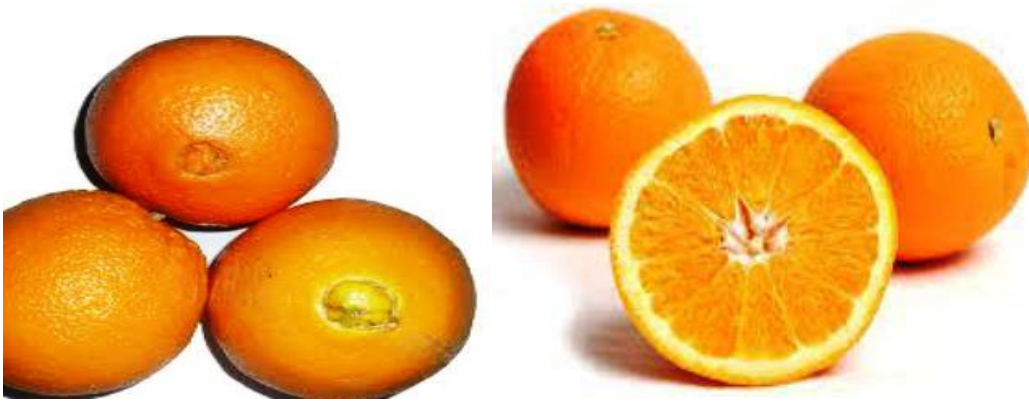


Figure 19. Oranges Navel [55].

C.1 – Oranges Navel précoces: Atwood, Fisher, Navelina, Skagg's bonanza, Thomson Zimmerman.

C.2 – Navel mi-saison : Caracara, Fukumoto, New Hall, Spring, Washington Navel.

C.3 – Navel tardives : Autumn Gold, Barnfield, Chislett, Lane late, Navel Late, Powell, Ricalate, Rhode Navel, Wiffen.

D – Hybrides d'orange douce : Chironja, Nucellar embryony, Poorman orange.



Figure 20. Hybrides d'orange douce [55].

E – Oranges sanguines :



Figure 21. Oranges sanguines [55] .

E.1 – Oranges légèrement sanguines : Caracara, Caracara panachée, Maltaise sanguine, Rhode Valencia rouge, Ruby, Vainiglia sanguigno, Washington sanguine.

E.2 – Oranges complètement sanguines : Delfino, Doble fina, Entrefina, Sanguinello, Sanguinello a Pignu, Sanguinello Moscato, Sanguinello Moscato di Cuscuna.

E.3 – Oranges profondément sanguines : Bream Tarocco, Moro, Sanguinelli, Smith Valencia rouge, Tarocco, Thermal Tarocco [62].

IX. Propriétés.

Les peaux d'oranges, mais aussi des autres agrumes (citrons, pamplemousses, etc), libèrent communément par pression ou par grattage des molécules de furocoumarines. Un contact prolongé ou un frottement avec la peau couplé à une exposition au soleil peut provoquer des rougeurs irritantes et des démangeaisons désagréables, il s'agit de brûlures (« coups de soleil ») favorisées par les furocoumarines qui sont photosensibilisantes pour la peau, et non d'une allergie. Ce sont ces mêmes gammes de molécules à base "coumarine" qui expliquent l'odeur des essences d'oranges et leurs implications relaxantes. Une étude chez l'homme a montré l'effet anxiolytique de l'odeur de l'essence d'orange diffusée dans l'atmosphère [57].

X. Utilisation.

En plus d'être un délicieux fruit, l'orange est une plante médicinale utilisée partout dans le monde. Elle possède des vertus thérapeutiques antiseptiques et stomachiques, carminatives et anti-infectieuses, sédatives et calmantes. L'orange est également un tonique digestif bien connu.

L'huile extraite de l'orange est tout aussi réputée que le fruit lui-même. Elle permet de calmer les états nerveux, les anxiétés et contrariétés qui accompagnent les mauvais états émotionnels. Elle aide à mieux dormir et efficace en cas de surmenage.

L'orange est connue pour son effet à calmer les troubles digestifs. En effet, elle aide à la digestion, soulage l'aérophagie et le ballonnement, protège la muqueuse gastrique et stimule l'appétit.

On la recommande également pour régler le rythme cardiaque et stopper les problèmes respiratoires comme la toux.

Grâce à son effet antiseptique, l'oranger aide à soigner les blessures et coupures cutanées. Par ailleurs, c'est un désodorisant naturel efficace.

De par ses multiples bienfaits, l'utilisation de l'orange regorge de plusieurs propriétés. Quelles sont-elles ?

- La consommation des feuilles d'oranger dans une infusion permet de calmer les nerfs
- Le jus d'orange permet de lutter contre la prostate et les problèmes urinaires.
- En buvant à jeun du jus d'orange mélangé avec 3 cristaux d'aloevera, vous combattrez les amygdales. - Dépurative, l'orange lutte contre l'obésité.
- La vitamine C contenue dans l'orange calme la fièvre.
- Utiliser sa pulpe pour en faire des compresses vous évitera l'apparition des rides précocement.
- Son odeur agit comme un parfum, idéal pour chasser les mauvaises odeurs de votre foyer, mais également vos chaussures.
- Mélanger de l'écorce d'orange, de l'eau et du vinaigre permet d'obtenir un produit désinfectant.

L'orange est même utilisée En cuisine : écorces d'oranges confites, pâtes de fruits, glaces, eau de fleurs d'oranger, liqueurs à base d'écorces d'oranges douces et amères.

En cosmétologie : elle rentre dans la composition de nombreux parfums et eaux de toilette [63].

XI. Conclusion.

L'orange est un agrume qui peut aussi être appelé hesperidium. L'hesperidium diffère de fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit. Les fruits des principales espèces et variétés cultivées de genre Citrus diffèrent par leur coloration, leur forme, leur calibre, la composition de leur jus et leur époque de maturité, cependant, tous les fruits de Citrus cultivés présentent la même structure anatomique [64]. D'un point de vue botanique, les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe appelé flavédo, le mésocarpe appelé albédo et l'endocarpe (pulpe). L'épicarpe est la surface périphérique du fruit. Il est coloré par des pigments caroténoïdes et représente 8 à 10% du fruit. Il contient des nombreuses glandes sécrétrices d'essences aromatiques qui sont réparties de façon irrégulière [65].

Chapitre III :

Activité biologique



I. Introduction.

Citrus reticulata sont des fruits tropicaux ou subtropicaux très répandus dans le monde. En plus d'être l'un des fruits les plus consommés, il revêt également une grande importance économique. Sa valeur en tant qu'un fruit délicieux, ses valeurs nutritionnelles sont également importantes. Les agrumes sont très riches en composés phénoliques et en flavonoïdes, ce qui leur attribue de nombreuses activités biologiques.

Parmi les différentes espèces de *Citrus reticulata*, plusieurs sont considérées comme compléments alimentaires dotées de propriétés pharmacologiques et médicinales. Des études antérieures ont rapporté diverses propriétés telles l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antiprolifératif, hypoglycémique et insecticides

II. Activité antibactérienne :

II.1. Généralités

Un microorganisme ne peut se trouver que dans deux états : la vie ou la mort (incapacité de se reproduire), sa destruction est donc un phénomène de tout ou rien. En revanche, une population de microorganismes mise en contact d'un agent antimicrobien comporte, au début uniquement, des microorganismes vivants puis un mélange de microorganismes vivants (survivants) et de microorganismes tués. Leur destruction ne sera en aucun cas instantanée [66]. Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bactéria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bactéria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique [67]. L'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme [68].

II.2.Culture des bactéries :

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe.). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon [67].

II .3 les types des bactéries étudiées :

3.1 Escherichia coli

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie qui s'établit dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes. C'est le cas des souches de *E. coli* dites entérohémorragiques (ECEH). Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique et urémique (SHU). Régulièrement, des souches d'ECEH sont la cause d'intoxications alimentaires via la consommation de produits animaux mal cuits ou consommés crus. Les fruits et les légumes frais, ayant été en contact avec ces souches peuvent être également à risque.



Figure 22 : La Bactérie *Escherichia coli*

3-2: *S. aureus*:

S.aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d'infections potentiellement mortelles (patient immunodéprimé, prothèses cardiaques). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom



Figure 23 : La Bactérie *S.aureus*

III. L`activité antioxydant :

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire [69].

1.1. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se rapparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique [70].

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires [Radical peroxyde (ROO

Radical alkoxy (RO)], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [71].

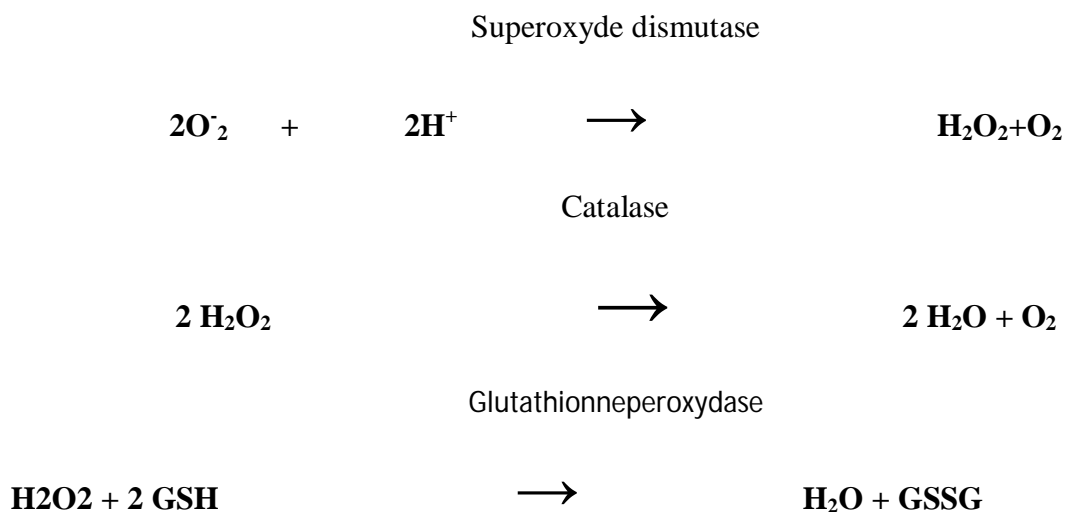
L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical superoxyde (O_2^-), radical hydroxyl (OH), monoxyde d'azote (NO)], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [l'oxygène singulet (1O_2), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$)] [72].

1.2 Les antioxydants :

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Il est défini par Halliwell (1999) comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». C'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres.

1.2.1. Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxydedismutase (SOD), de catalase et de peroxydase [73]. Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique [74].

1.2.2. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes. Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, la B-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [75].

2. Rôles biologiques des radicaux libres :

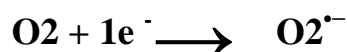
Les ERO remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes[76], à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire. [77]

3. Source des radicaux libres

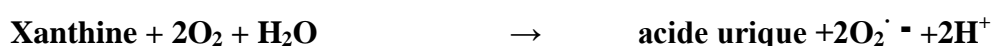
On distingue deux sources des radicaux libres

3.1. Les sources endogènes

L'une des sources majeures des ERO est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire. Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial. [78]

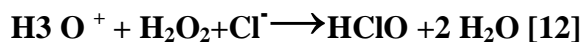


D'autre part les ERO peuvent se produire au cours des processus pathologiques ou la production du radical réponde à une stimulation et intervient dans le processus inflammatoire (NADPH oxydase et xanthine oxydase) [79]. Les cellules phagocytaires activées sont le siège d'un phénomène appelé "explosion oxydative", consistant en l'activation du complexe NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme lorsqu'il est contrôlé est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers [80]. D'ailleurs le système xanthine/xanthine oxydase permet aussi la production de l'anionsuperoxyde :



Une autre espèce réactive oxygénée produite au cours de l'inflammation est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ; en vue de réagir directement ou de produire l'acide hypochloreux par l'intervention de myéloperoxydase (HClO). Cette espèce est caractérisée par un pouvoir oxydant nettement plus élevé que le H_2O_2 .

Myéloperoxydase



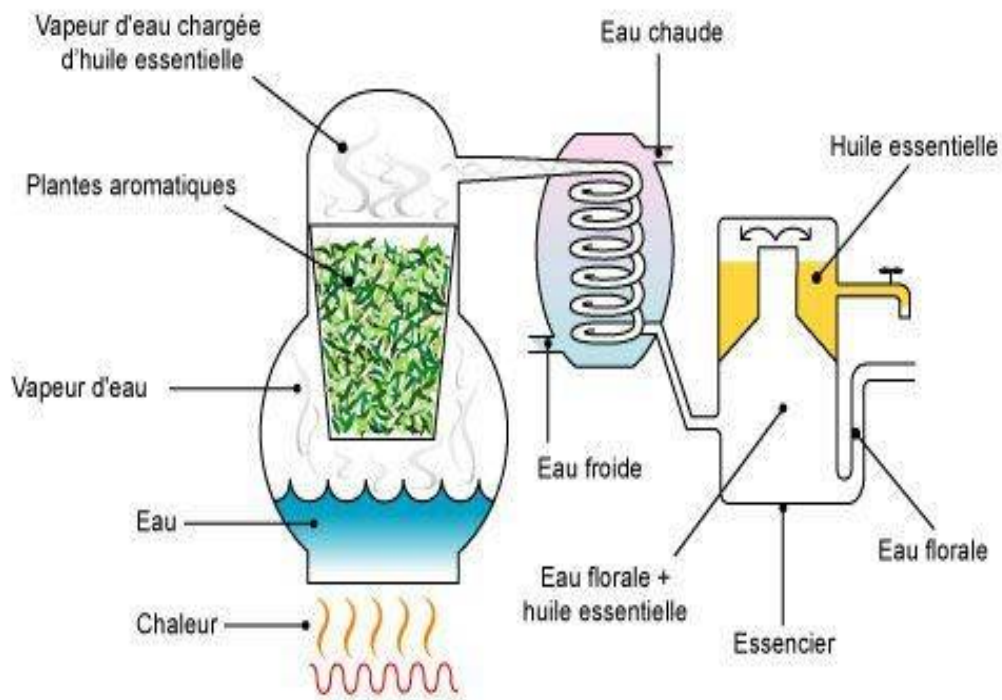
Le monoxyde d'azote est produit aussi par un système enzymatique NO synthétase (NOS), à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages. [81] D'autres systèmes sont capables de produire les ERO, citons par exemple : les réactions catalysées par les lipooxygénases et cyclooxygénases dans la voie de synthèse des leucotriènes, et prostaglandines[82]; les aldéhydes oxydases ou les protéines hémiques qui peuvent oxyder leur fer (I) en fer (III) avec production du radical $\text{O}_2^{\cdot -}$ [83]. C'est ainsi l'auto-oxydation des monoamines (dopamine, épinéphrine, et norépinéphrine) ; et l'hémoglobine en présence de traces de métaux peut également être à l'origine de la production des ERO. [84]

3.2 Les sources exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres. Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène. [85] L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes [86]. Des toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels), sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires. [87]

Chapitre V :

Matériels et méthodes



I. Introduction :

Dans ce chapitre on va présenter les différentes étapes de préparation de la matière végétale, à partir de la cueillette de la plante jusqu'à l'extraction et l'obtention de l'huile essentielle, les techniques optées pour la caractérisation de l'huile extraite, ainsi que la méthodologie des plans d'expériences adoptée afin de chercher les conditions optimales pour une extraction avec un meilleur rendement.

II. Matériel :

II.1 Matière végétale :

La plante choisie est une espèce spontanée appartenant au genre orange, de la famille des agrumes, un des éléments caractéristiques de la fruite du Nord Est Algérien.

II.2 Cueillette de la plante :

Dans cette étude la plante choisie a été récolté au niveau de la wilaya de Tizi Ouzou, dans la Draa Ben Khedda, durant le mois de février 2019 aux coordonnées suivantes : longitude 4.05 N ; latitude 36.7167 E et d'altitude d'environ.



Figure 24 : Localisation des sites de prélèvement

II.3 Préparation de l'espèce végétale pour l'extraction :

Les différentes étapes de préparation de l'échantillon aux expériences sont présentes de la manière suivante :

- Au début, il faut commencer par raper les écorces d'oranges et les peser. On aura besoin de connaître la masse d'écorce d'orange utilisée pour déterminer le rendement de l'extraction.



Figure 25. Pesée des écorces d'oranges : $m = 50,0 \text{ g}$.

- Ces écorces d'oranges sont ensuite placées dans un ballon de 1500L dans lequel on rajoute 1000L de l'eau distillée pour procéder à une hydro distillation.

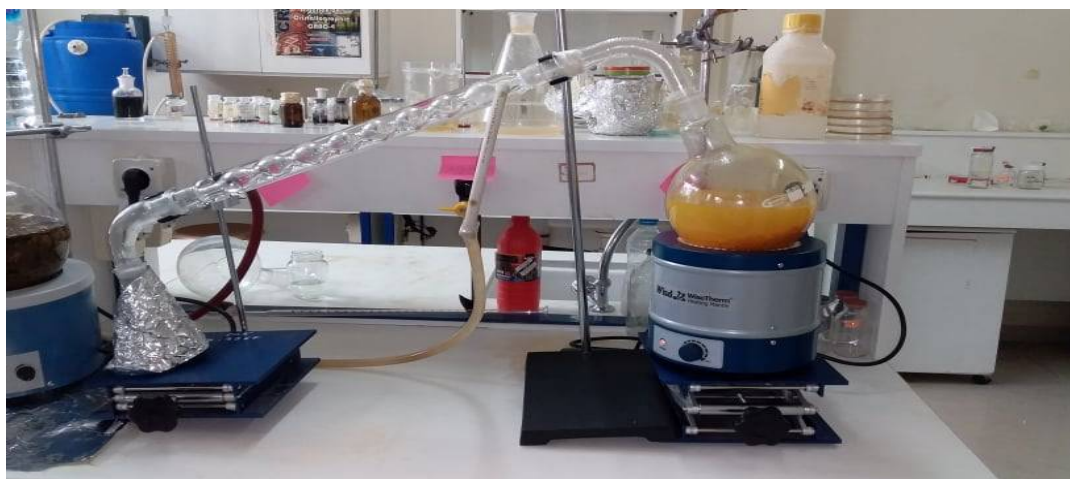


Figure 26. Montage d'hydrodistillation manipulé

- Le mélange est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon. De la vapeur d'eau se forme et entraîne avec elle les arômes contenus dans les écorces d'oranges. Ce mélange gazeux monte dans la tête de colonne puis pénètre dans un réfrigérant à eau, parcouru par de l'eau froide venant du robinet. On recueille alors le distillat dans une éprouvette. L'ampoule de

coulée contient de l'eau, ce qui permet de rajouter de l'eau dans le ballon, quand il ne reste plus suffisamment d'eau dans le ballon. Le ballon doit toujours contenir de l'eau, car sinon, les écorces d'orange risquent de brûler sous l'effet du chauffage.

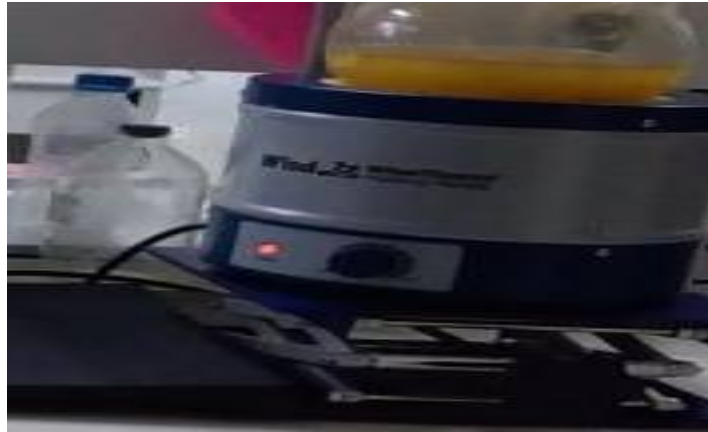


Figure 27. Etape de chauffage dans la chauffe ballon

- Le distillat recueilli contient majoritairement de l'eau, mais il très odorant, indiquant qu'il contient bien les arômes contenus dans l'écorce des oranges.
- On arrête l'hydrodistillation lorsqu'on recueille environ 70 ml de distillat.
- L'hydrodistillation étant une manipulation assez longue.

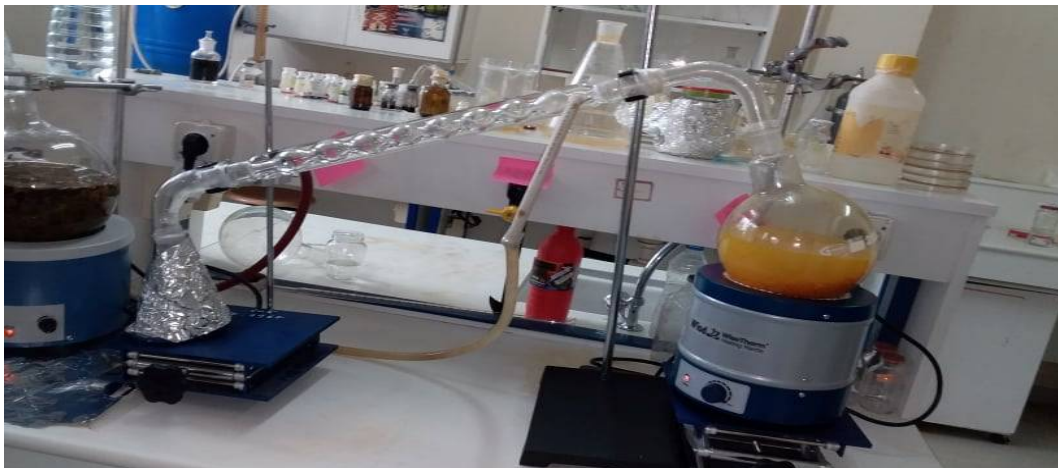


Figure 28. Hydrodistillation terminée

- Une fois les 70 ml de distillat obtenus, il faut procéder à une extraction, si on souhaite recueillir uniquement l'huile essentielle d'orange.

- Pour cela, le distillat est transvasé dans une ampoule à décanter, dans laquelle on va rajouter de l'éther. L'éther est un liquide non miscible à l'eau, dans lequel l'huile essentielle d'orange est très soluble.



Figure 29. L'ampoule à décanter

- Pour utiliser
- correctement l'ampoule à décanter, il faut bien agiter et penser à dégazer régulièrement. L'éther est un liquide très volatil.



Figure 30. L'ampoule à décanter

- Il faut ensuite laisser reposer l'ampoule à décanter, pour bien séparer la phase aqueuse contenant l'eau, et la phase organique contenant l'éther et l'huile essentielle d'orange.
- Une fois l'extraction terminée, il faut évaporer l'éther pour recueillir l'huile essentielle d'orange. Après évaporation de l'éther, on obtient une très petite quantité d'huile essentielle dans l'erenmeyer.
- Le rendement obtenu est très faible, ce qui explique que les huiles essentielles soient vendues très chères dans le commerce.

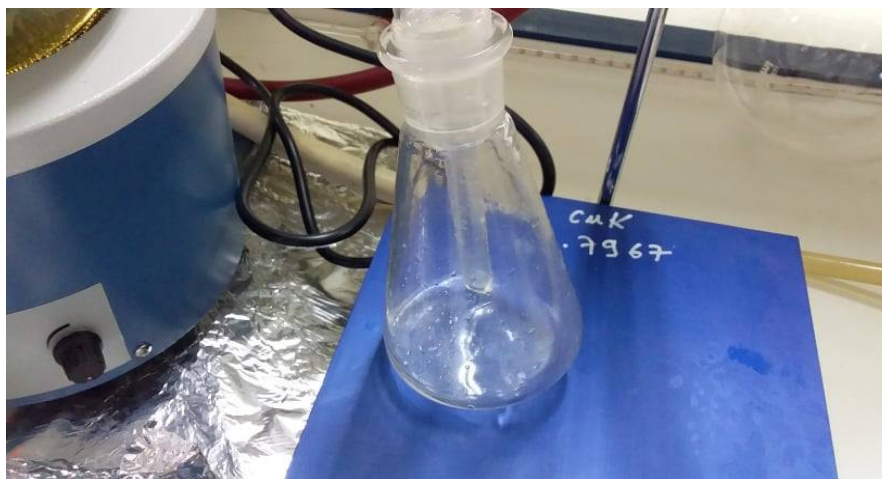


Figure 31. Huile essentielle d'orange, liquide légèrement jaune et visqueux

- Pour vérifier que l'huile essentielle contient bien du limonène, il faut procéder à une chromatographie.
- Sur une plaque de silice, on dépose une goutte de distillat, et une goutte de limonène pur de référence.
- L'ensemble est placé dans une cuve chromatographique contenant un éluant adapté.
- L'éluant migre sur la plaque chromatographique en entraînant avec lui, les composés déposés préalablement sur cette plaque.
- Une fois la chromatographie terminée, il faut révéler le chromatogramme, car les composés sont incolores. On utilise pour cela, une solution de permanganate de potassium.

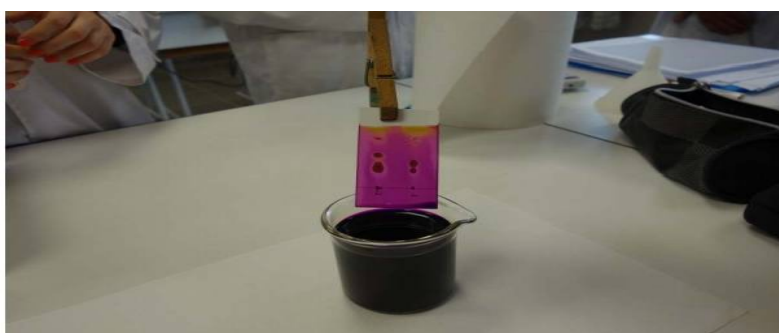


Figure 32. La chromatographie

- Le distillat contient bien du limonène. La manipulation est réussie...

III. Rendement d'huile essentielle.

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M) et la masse de la matière végétale utilisée (MS). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = (M / MS) * 100$$

IV. Conservation de l'huile essentielle.

L'huile essentielle récupérée est conservée dans des flacons en verre opaque fermés hermétiquement au réfrigérateur à une température voisine de 4°C, pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température.

V. Etude analytique de l'huile essentielle extraite.

V.1. Propriétés organoleptiques :

L'analyse sensorielle est une source d'information essentielle qui, reflète les attentes et les tendances des consommateurs. L'analyse a été effectuée en observant et en inhalant directement l'huile essentielle. L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle. La couleur d'huile essentielle est un paramètre très important pour certaines applications, en la déterminer directement par les yeux.

$$\text{RHE} = (M / MS) * 100$$

V.2. Propriétés physico-chimiques :

V.2.1 Densité relative :

A l'aide d'une balance électronique de précision 10^{-4} , on pèse une quantité de 1ml d'huile essentielle afin d'obtenir son poids exact à une température bien définie. Pour déterminer la densité de notre essence à 20°C on utilise l'équation suivante :

$$d^{20} = d_{\theta} + 0.00068 * (\theta - 20^{\circ}\text{C})$$

Où : - d^{20} = Densité à 20°C.

- d_{θ} = Densité à la température de mesure.

θ = Température de mesure.

0,00068 : Constant de variation de la densité quand la température varie de 1°C.

V.2.2. Indice de réfraction :

La mesure de l'indice de réfraction de notre huile a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque KRUSS (figure10).

Après étalonnage et nettoyage de l'appareil à l'aide d'une substance d'indice de réfraction connu à la température fixée à 20°C, on place 2 gouttes d'huile essentielle au milieu du prisme. Puis on regarde dans l'oculaire et le mesure se fait en tournant le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, finalement on note la valeur de l'indice par l'échelle de lecture.



Figure 33. Réfractomètre type KRUSS

Une formule empirique permet d'évaluer l'indice de réfraction d'un liquide à 20°C quand on l'a mesuré à une température légèrement différente :

$$I_r = I_t + 0,00045(T-20)$$

I_{r20} = Indice à 20°C

I_t = Indice à la température de mesure.

T = Température de mesure.

0,00045 : Constant de variation de l'indice de réfraction quand la température varie de 1°C.

V.2.3 Indice d'acide :

C'est le nombre de milligramme de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'éthanol titrée de KOH, c'est-à-dire la mesure d'indice acide est réalisée par titrage (figure11).

1g d'huile essentielle est introduit dans un bécher de 25ml ; on ajoute 5ml d'éthanol absolu à 99,8° et 3 gouttes de l'indicateur coloré phénophtaléine. Puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium 0,1N.



Figure 34. Dispositif de mesure d'indice d'acide

A la fin on prend le volume exact de KOH consommé pour calculer l'indice d'acide par la relation suivante :

$$\mathbf{IA = (5,61 * V_{KOH}) / m_h}$$

IA: Indice d'acide.

V_{KOH} : Volume d'hydroxyde de potassium en (ml).

m_h : Masse d'huile en (g).

1.61 : Constant.

Conclusion

Le travail réalisé au cours de cette étude nous a permis d'approfondir les notions et de maîtriser les techniques de valorisation des huiles essentielles à savoir :

- Dominer la manipulation d'un montage d'extraction par hydrodistillation de typeClevenger ;
- Maîtriser les différentes techniques de caractérisation des huiles essentielles par analyse sensorielle (caractérisation organoleptique), et par détermination des propriétés physico-chimiques.

Résultats et discussions

I. Introduction.

Les citroflavonoïdes sont des poly-phénols de la famille des flavonoïdes que l'on trouve spécifiquement dans l'écorce des agrumes (orange, citron, pamplemousse, mandarine, orange amère). Ce sont des pigments neutralisant les radicaux libres. Ils sont antioxydants et améliorent l'absorption de la vitamine C.

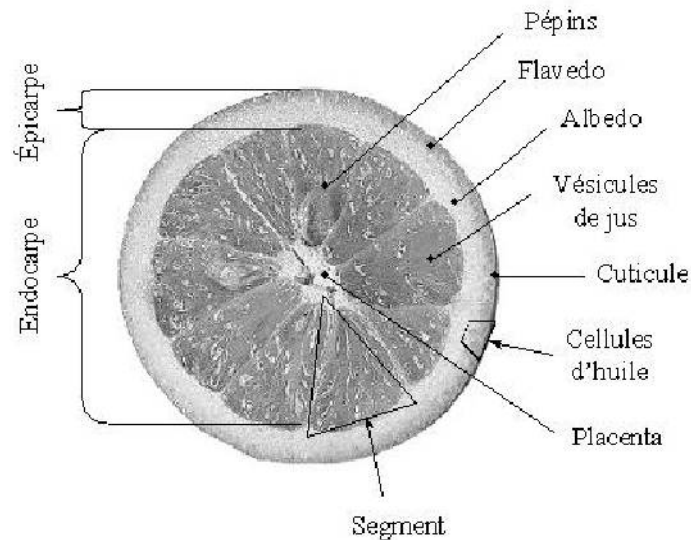


Figure 35. Coupe transversale d'orange.

II. Etude des sites sécréteurs des huiles essentielles dans l'orange douce :

Les poches sécrétrices dans le péricarpe des agrumes sont délimitées par des cellules sécrétrices de forme arrondie qui y déversent leurs produits de sécrétion (**Figure 34**).

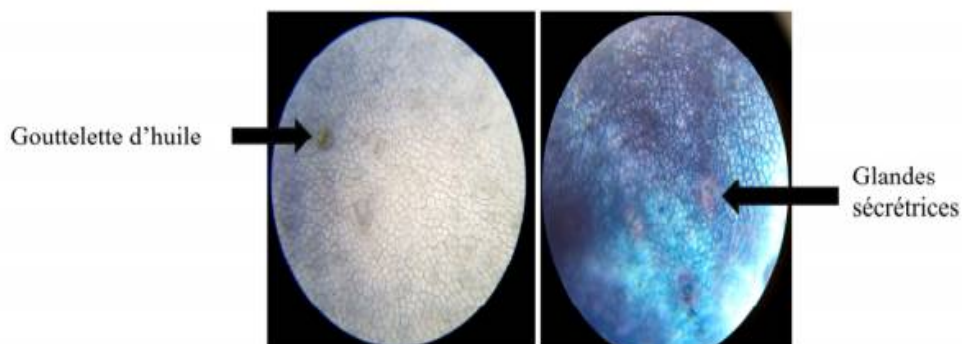


Figure 36 : Photographies des coupes anatomiques des sites sécréteurs de l'orange douce avec et sans coloration au grossissement (X40).

Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative des composés chimiques des HEs par CPG sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : composition chimique (%) des HEs de *C. Sinensis* analysée par la CPG

Les composés (%)	(DBK)
α -pinène	0.33
saberène	0.414
β -pinène	0.03
myrcène	1.61
α -phellanel	0.90
carène	0.25
α -terpène	0.09
limonène	90.81
terpène 4-ol	0.07
δ -terpène	0.09
otanol	0.16
terpinolène	0.08
linalol	1.88
citranellal	0.25
α -terpeneol	0.43
citral	0.31
néral	0.36
nérol	0.17
géraniol	0.64
acétate de citranellyl	0.09
acétate de géranyl	Absent
β -caryophylle	0.06
α -humulène	Absent

L'analyse de la composition des HEs d'orange douce par CPG a permis de dénombrer 21 substances pour l'HE de la région de DBK. l'HE de DBK est constituée essentiellement de

limonène (90.81%), de myrcène (1.61%) et de linalol (1.88%). Le terpinolène et l'acétate de citranellyl.

On constate également la présence des aldéhydes (Néral et Géraniol) à raison de 0.17%, 0.64% pour DBK. Selon Hellal (2011) et Gancel et al. (2005), ces deux composés sont absents chez *C. sinensis*, par contre Bousbia (2011) a constaté leur présence avec des teneurs ne dépassant pas 0.14%. On remarque également l'absence de p-cymène dans l'huile. [88] ont considéré que le procédé d'extraction était adéquat uniquement lorsque l'HE obtenue ne contient pas de p-cymène, considéré comme un bon indicateur de l'oxydation des monoterpènes dans les HEs des agrumes.

En étudiant la composition chimique de HE d'orange,[89]ont conclu qu'en plus des monoterpènes, ce HE renferment des acides gras en quantité assez faible (0.8%) ; l'acide linoléique est l'acide gras principal d'orange.

Selon Senatore et al. (2000) les variations rencontrées dans la composition chimique des HEs du point de vue qualitative et quantitative, peuvent dépendre d'un ou de la combinaison de plusieurs facteurs : le patrimoine génétique, l'âge, l'environnement de la plante et la présence de chemotype. [90] ont signalé que le stade de maturité du fruit a un impact important sur la composition chimique de l'HE. Ainsi les terpènes sont exclusivement présents dans l'HE du fruit non mur ; les concentrations en aldéhydes, les terpènes oxygénés et sesquiterpènes aliphatiques augmentent au fur et à mesure que le fruit munit. L'acétate de géranyl (0.11%) et α -humulène (0.035%) ne sont représentés qu'à des taux très faible dans l'HE. Ces résultats sont relativement différents de ceux obtenus par Hellal (2011) qui a montré que la composition chimique de l'huile d'orange douce était constituée principalement de limonène (77.37%) et de β -pinène (3.45%). [91] ont confirmé que l'HE d'orange douce était composé majoritairement de limonène avec des teneurs qui varient de 68% à 98%. Cependant, dans cette même étude le linalol n'est représenté qu'à des taux Résultats et discussions 33 faibles (0.2%), ainsi que le néral et le géraniol sont représentés avec des concentrations qui varient de 0.1% à 0.7%.

V. Activité antibactérienne :

IV.1. Station Drâa Ben Khedda

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de la station DBK sont représentés dans les figures ci-dessous :

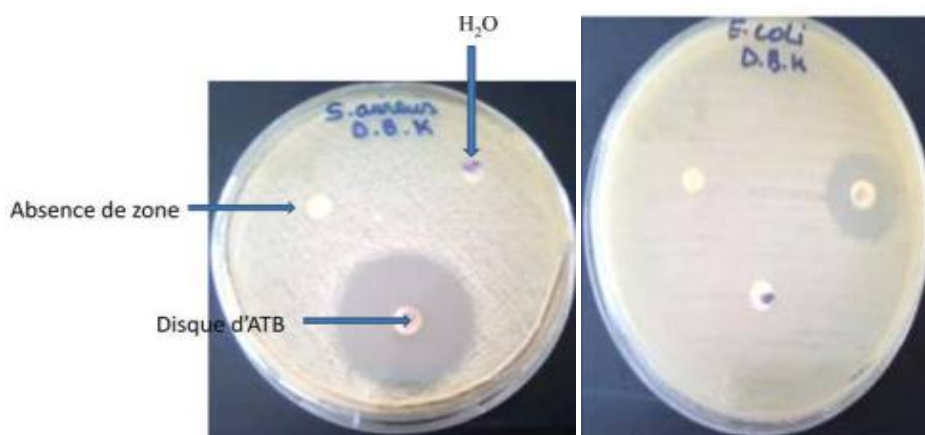


Figure 38: Effet de l'HE de DBK sur *E. coli*(ATCC25922), *S. aureus* (ATCC25923)

Le résultat de l'activité antimicrobienne de l'HE de la station DBK sur les souches *E. coli*, *S. aureus* ont montré que les trois souches sont résistantes à cette HE.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Zone d'inhibition en (mm) de l'HE de la station DBK.

Diamètre d'inhibition (Ø = mm)	Staphylococcus aureus	Escherichia coli
	00	00
La sensibilité	Résistante	Résistante

Les huiles n'ont montré aucun effet antibactérien sur *E. coli*. Ceci est dû au potentiel de résistance que possède cette bactérie contre l'action antibactérienne des HEs d'orange notamment d'orange douce. En revanche, *S. aureus* a manifesté une sensibilité modérée vis-à-vis de l'HE. Comme dans notre étude, [92] a rapporté que *S. aureus* était la seule souche sensible au *C. limonum* (citron) avec un diamètre de 30.33mm, 16mm vis-à-vis de *C. aurantium* (orange amère) et 11.66mm pour orange. [93] ont rapporté que *S. aureus* a présenté

une sensibilité variable envers les HEs de quelques espèces de citrus testés. En effet les zones d'inhibition avec *Citrus reticulata* (mandarine) et *Citrus clementina* (clémentine) étaient de 15,06mm et 12,62mm respectivement. Ces deux souches ont été déjà décrites en littérature comme étant résistantes à différentes HEs. En effet [94] a montré que l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* était inefficace contre *E. coli* et efficace contre *S. aureus*. Cette sensibilité plus marquée des bactéries à Gram positif (*S.aureus*) vis-à-vis des HEs a été observée par plusieurs auteurs [95]. Par contre l'HE issue de la terre sableuse n'a montré aucune efficacité contre les 2 souches testées.

D'après Kalembe et Kunicka (2003) la sensibilité d'un microorganisme dépend des propriétés de l'HE et du microorganisme lui-même. Selon plusieurs auteurs la grande résistance des bactéries Gram négatif aux HEs est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram positif. Cependant [96] ont souligné que les HEs volatiles ont peu d'influence sur l'inhibition de la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif. Les principaux composants actifs des HEs qui ont un effet sur les agents pathogène d'origine alimentaire contiennent généralement 1% des composés phénoliques tels que : le citral, α terpinéol et le linalol[97]. Les propriétés antibactériennes de ces composés sont liées à leurs caractères lipophiles, ce qui aboutit à leur accumulation au niveau des parois bactériennes, perturbant ainsi le fonctionnement, la perméabilité de la membrane cellulaire, et la dégradation de la paroi cellulaire [98] En effet, les HEs de la Thomson n'ont exercé aucune action antibactérienne sur les souches testées. Ces HEs à chemotype limonène 90,64% (argileuse) et 90,81% (sableuse) ont démontré une efficacité négative vis-à-vis des souches testées.

Ces résultats sont en accord avec ceux de [99], qui ont démontré que les hydrocarburesmonoterpéniques, abondants dans les HEs de Citrus contenant le limonène comme constituants principal, sont faiblement inhibiteurs contre plusieurs souches bactériennes. Selon Delaquis et al. (2002), l'activité antimicrobienne de certaines HEs pourrait être attribuée à la présence des composés mineurs présents à faible taux tels que : le nérol, néral, cimmanaldehyde, carvacrol, géraniol, myrténal et eugénol. Ces derniers, agissent en synergie ce qui permet une activité plus importante que celle obtenue par les composés majoritaires.

[100] ont rapporté que les alcools se sont avérés importants dans l'activité antimicrobienne, par exemple le terpinène 4-ol est plus actif que le terpinéol. En plus, les esters peuvent aussi participer à l'effet antimicrobien tels que : l'acétate de géranyl, acétate de néryl et α -terpenyl qui possèdent une grande activité antibactérienne. Dans notre cas la différence de pourcentage en Terpinolène, α -humulène Géraniol, Acétate de géranyl, acétate de citranellyl, entre la terre argileuse et sableuse peut expliquer l'absence d'effet sur *S. aureus* de l'HE issue de la terre sableuse. Cependant la détermination de l'efficacité des HEs sur les agents microbiens reste difficile à réaliser, à cause de certains paramètres externes incontrôlables tels que la composition des HEs, qui varie selon les conditions environnementales et pédologiques au sein d'une même espèce.

IV.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Le résultat des macro-dilutions sur milieu liquide de l'HE de la terre argileuse sur *S. aureus* ont montré que l'HE diluée n'a exercé aucun effet antibactérien vis-à-vis de *S. aureus*. Orange douce est caractérisée par une faible activité antimicrobienne, en effet [101] a calculé les CMI uniquement pour les huiles de *C. aurantium* et *C. limonum* qui ont exercés un effet antibactérien important.

VI. Activité antioxydante :

Les résultats de l'activité anti radicalaire d' HE sont représentés dans la figure ci-dessous :

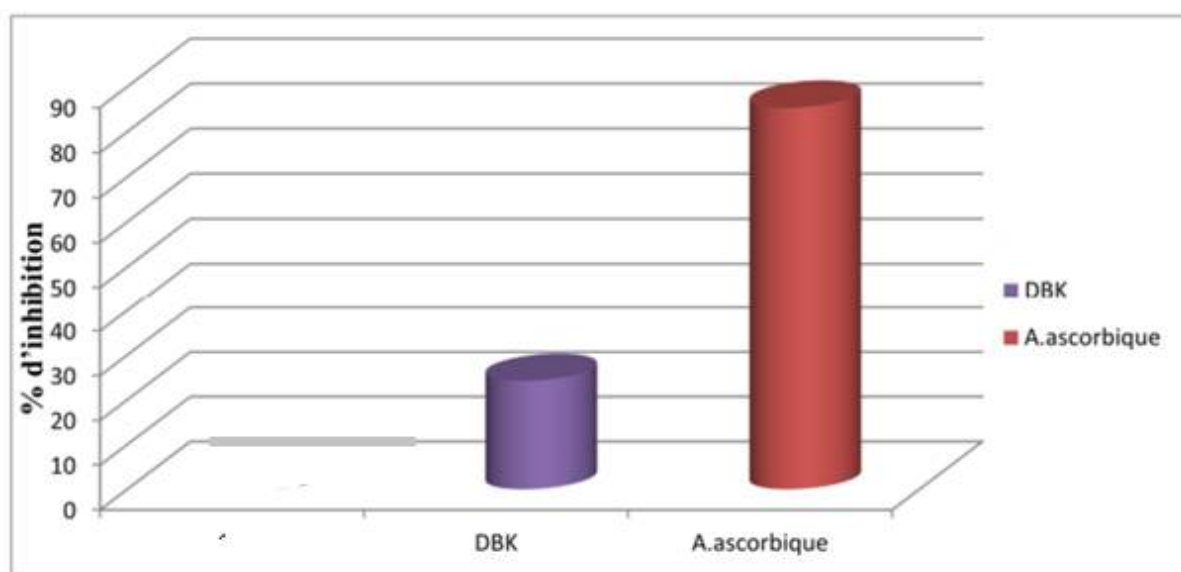


Figure 39: Piégeage du radical DPPH

Tableau 6: Pourcentage d'inhibitions des HEs et de l'acide ascorbique.

Huile essentielle	DBK	Acide ascorbique
% d'inhibition	22.24	85.32

L'activité antioxydante des HEs testées a manifesté un potentiel antioxydant modéré avec cette méthode. L'HE de DBK a démontré une activité antiradicalaire à une concentration de 13.34µg/mL avec un taux d'inhibition de 22.24%. Le faible pouvoir antiradicalaire de cette huile est principalement lié au profil chimique, notamment l'absence de thymol et de carvacrol qui ont un effet antioxydant fortont montré que la concentration la plus faible en composés phénoliques a été enregistrée pour orange par rapport aux différentes espèces de citrus. La variation dans l'activité antioxydante d'HE est due à la nature quantitative et qualitative de leur contenu phénolique [102]. L'activité antioxydante est attribuée à la composition chimique des HEs : caroténoïdes, polyphénols et acides phénoliques (les acides galliques, vanillique, salicylique, caffeique, procatechique). Cependant, elle peut être due à l'un des constituants majoritaires ou à d'autres constituants minoritaires ou également à une synergie entre eux [103]. Dans une étude antérieure sur les HEs avec une prédominance monoterpénique il a été démontré, que l'activité antioxydante était relativement modérée [104].

Conclusions

Les HEs des agrumes sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe. L'extraction par hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement en HE de 0.52% pour la terre argileuse. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de ces deux huiles a révélé :

- L'HE est de chemotype limonène (90%)
- La présence de certains composés (Acétate de géranyl, humulène) dans l'HE argileuse, et leur absence dans l'HE sableuse.
- L'abondance de terpinolène (0.58%) dans l'HE argileuse, et son faible taux dans l'HE de terre sableuse (0.08%).

Les travaux menés par notre étude ont permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antioxydante des HEs d'orange. Ainsi, l'HE issue de la terre sableuse n'a exercé aucune activité antibactérienne sur les souches étudiées ; qu'elles soient Gram négatif (*E. coli*) ou Gram positif (*S. aureus*). En revanche l'HE de la terre argileuse a exercé une activité antibactérienne uniquement sur une souche Gram positive (*S. aureus*). En ce qui concerne l'activité antiradicalaire, les deux HEs ont présenté une activité modérée.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussées de l'activité antimicrobienne en testant ces deux HEs sur d'autres souches Gram positives et des souches fongiques. Il serait également intéressant d'élargir le panel des tests d'activités antioxydantes (FRAP, ABTS, test β -carotène, etc.). Comme le limonène est les monoterpènes hydrocarbonés le plus abondant dans les oranges, il constitue un bon exemple d'agrosolvant. Les industries ne pouvant pas perdre ces matières premières, il serait intéressant d'envisager leur application comme solvants industriels naturels dans de nombreux secteurs comme l'agroalimentaire, la pharmacie, la cosmétique et les parfums.

Résumé

Résumé

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressées à la valorisation des écorces de l'orange douce.

De ce fait, une extraction des huiles essentielles (HEs) par hydrodistillation a été réalisée et un rendement de 0.53% a été obtenu. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de ces huiles a permis d'identifier 22 composés pour l'HE dont le limonène est le constituant majoritaire.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a révélé, que l'HE d'orange est efficace contre la souche *S. aureus* (ATCC25923) avec un diamètre d'inhibition de 11 mm, L'absence d'un effet antibactérien sur la souche *E. coli* (ATCC25922) a été constaté pour HE.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH, a révélé un pourcentage d'inhibition de 22.24% pour l'HE .

Ce travail préliminaire permettra de connaître les usages et les composés des huiles essentielles d'orange et de leurs composés, ainsi que de savoir comment les extraire.

Mots clé :

Orange douce , huile essentielle, hydrodistillation , chromatographie en phase gazeuse, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Abstract

In this study, we are interested in the valuation of the peels of the sweet orange. Therefore, an extraction of essential oils (EOs) by hydrodistillation was carried out and a yield of 0.53% was obtained. Gas chromatographic analysis of these oils identified 22 EO compounds, of which limonene is the major constituent.

The evaluation of the antibacterial activity revealed that the orange EO is effective against the *S. aureus* strain (ATCC25923) with an inhibition diameter of 11mm. The lack of an antibacterial effect on the *E. coli* strain (ATCC25922) has been found for HE.

The evaluation of the antioxidant activity by scavenging the free radical DPPH, revealed a percentage inhibition of 22.24% for EO.

This preliminary work will make it possible to know the uses and compounds of orange essential oils and their compounds, as well as to know how to extract them.

Keywords:

Sweet orange, essential oil, hydrodistillation, gas chromatography, antibacterial activity, antioxidant activity.

ملخص

في هذه الدراسة ، نهتم بتقييم قشور البرتقال الحلو.

عن طريق التقطير المائي وتم الحصول على عائد (ETs) نتيجة لذلك ، تم استخراج الزيوت الأساسية ، يعتبر الليمونين EO 0.53%. حدد التحليل الكروماتوغرافي للغاز لهذه الزيوت 22 مركبًا من مركبات المكون الرئيسي لها.

S. aureus (ATCC25923) البرتقالي فعال ضد سلالة EO أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا أن من E. coli (ATCC25922) بقطر تثبيط يبلغ 11 ملم ، عدم وجود تأثير مضاد للجراثيم على بكتيريا HE. أجل.

، نسبة تثبيط قدرها DPPH 22.24 أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق تنظيف الجذور الحرة EO % 1.

سيسمح هذا العمل التمهيدي بمعرفة استخدامات ومركبات زيوت البرتقال الأساسية ومركباتها ، وكذلك معرفة كيفية استخلاصها.

الكلمات الدالة:

البرتقال الحلو ، الزيت العطري ، التقطير المائي ، كروماتوغرافيا الغاز ، النشاط المضاد للبكتيريا ، نشاط مضادات الأكسدة

Les références

Les références:

1. **CLEVINGER J.F., 1928:** Apparatus for the determination of volatile oil. J. Amer. Pharm. Assoc., Vol. 17, pp : 336-341.
2. **MÖLLER K., 2008:** La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.
3. **BERTHIER A., 1980:** Epices-aromates leurs huiles essentielles et oléorésines. parfums, cosmétiques, arômes n°34- août/septembre 1980 ; pp 39-44.
4. **MoroBuronzo E. (2008):** Grande guide des huiles essentielles (santé, beauté, bien-être). Bd. Hachette pratique, Italie, 242p.
5. **DURVELLE J.-P., 1893 :** Fabrication des essences et des parfums. Editeur J. FRITSCH, Paris.
6. **CHARABOT E. ; DUPONT J. & PILLET L., 1899 :** Les huiles essentielles et leurs principaux constituants, Ed. CH. Beranger, Paris.
7. **DURVELLE J.-P., 1930 :** Fabrication des essences et des parfums. Ed. Desforges, Girardot et Cie, 807 p.
8. **BRUNETON J., 1999 :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. ; pp : 461 – 769.
9. **Wildwood C. (1996) :** L'aromathérapie les bienfaits des huiles essentielles au quotidien. Ed Enterlacs, Paris, 200p
10. **Jouault S., 2012:** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. France. 137 p.
11. **Guignard J.L. (2000):** Biochimie végétales. 21me édition. Ed. Dunod, Paris, 230p
12. **Houël E., 2011:** Etude des substances bioactives issues de la flore amazonienne. Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de Quassia amara L. (Simaroubaceae) et Psidium acutangulum D.C. (Myrtaceae) utilisées en Guyane Française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolique d'huiles essentielles à activité antifongique. Thèse de doctorat en chimie des substances. Université des Antilles et de la Guyane. 220P
13. **Gershezon J.et Dudarveva N., 2007:** The function of terpen natural products in the natural world. Natural chemistry and Biology. Vol.3 (7) : 407-414.
14. **De Figueiredo A.C., Barrosso J.G., Pedro L.G. & Scheffer J.C., 2008:** Factory affecting secondary metabolites production in plants : volatile components and essential oils .Flavour Fragrance Journal Vol.23 : 213-226.

15. **Tchoumboungang F., Jazet Dongmo P.M., Sameza M.L., Nkouaya Mbanjo E.G., Tiako Fosto G.B., Amvam Zollo P.H. & Menut C., 2009** : Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnologie, Agronomie Société et Environnement*. Vol. 13 (1) : 77-84.
16. **BRUNETON J., 1993** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition Lavoisier, 385 – 623 P.
17. **Seenivasan prabuseenivasan, 2006**: In vitro antibacterial activity of some plant essential oils *Journal of Complementary and Alternative Medicine*. vol p9-39
18. **Berigaud M. (2002)**: Aromathérapie. Bd. Pardes, France, 245p.
19. **BRUNETON J., 1993** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition Lavoisier, 385 – 623 P.
20. **Riberneau P. et Gayon F. (1981)**: Les composés phénoliques. Bd. Dunod, Paris, 178p.
21. **BRUNETON J., 1993** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition Lavoisier, 385 – 623 P.
22. **Riberneau P. et Gayon F. (1981)**: Les composés phénoliques. Bd. Dunod, Paris, 178p
23. **Riberneau P. et Gayon F. (1981)**: Les composés phénoliques. Bd. Dunod, Paris, 178p
24. **Samate Abdoul D. (2001)** : composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanaise du Burkina Faso : Valorisation thèse de doctorat, Univ. d'Ouagadougou, Burkina Faso.
25. **Brian M.L.(1995)** : the isolation of aromatic materials from plant products, R.J.Reynolds Tobacco Company, Winston-Salem(USA), p57-148.
26. **Lucchesi M.E. (2005)**: Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion. Faculté des Sciences et Technologies
27. **Web master 1**: [http:// www. huiles essentielles.pro/utilisation des huiles essentielles.html](http://www.huilesessentielles.pro/utilisation_des_huiles_essentielles.html). Consulté le 24-12-2012 à 10 :44.
28. **Gueorguiev E. (1988)**: Technologie de production des huiles essentielles. Ed ISTA, France, 120p.
29. **Poichon M. (2008)**: L'étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire, Université du Québec Chicoutimi, Canada.

30. **Pourmortazavi S.M. & Hajimirsadeghi S.S. (2007):** «Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis» *Journal of Chromatography A*, 1162, 224
31. **Mengel, P.; Beh, D.; Bellido, G.M.; Monpon, B. (1993):** VFIMD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums Cosmétiques Arômes* 114,66-67.
32. **Lucchesi, M.E.; Smadja, J.; Bradshaw, S.; Louw, W.; Chemat, F. (2007):** Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food Engineer.* 79,1079-1086.
33. **Flamini, G.; Tebano, M.; Cioni, P.L; Ceccarini, L; Ricci, A.S.; Longo, I. 2007:** Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *J. Chromatogr.* 1143, 36-40.
34. **Bernard T. et Colt. (1988) :** Extraction des huiles essentielles chimie et technologie. *Information Chimie.* 4 (1): 107-110.
35. **Roux R, (2008) :** Conseil en aromathérapie 2^{ème} Edition pro-officia., p187. Their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologie*, 128 :p151-153.
36. **Mohamed K. (1997) :** Extraction des huiles essentielles du romarin et du pin d'Alep. *Mémoire Mag. Univ. Blida*, 140p.
37. **Richard H., Multon J.L. (1992) :** Les aromes alimentaires. Ed Lavoisier, Paris, 135p.
38. **Naves Y.R. (1974) :** Les parfums naturels. Ed. Masson, Paris, 155p.
39. **Duraffourd C. Lapraz J.C. et Chemti R. (1997) :** la plante médicinale de la tradition à la science. Ed. Crancher, Paris, 538p.
40. **MoroBuronzo E. (2008):** Grande guide des huiles essentielles (santé, beauté, bien-être). Bd. Hachette pratique, Italie, 242p.
41. **MoroBuronzo E. (2008):** Grande guide des huiles essentielles (santé, beauté, bien-être). Bd. Hachette pratique, Italie, 242p.
42. **MoroBuronzo E. (2008):** Grande guide des huiles essentielles (santé, beauté, bien-être). Bd. Hachette pratique, Italie, 242p.
43. **MoroBuronzo E. (2008):** Grande guide des huiles essentielles (santé, beauté, bien-être). Bd. Hachette pratique, Italie, 242p.
44. **MoroBuronzo E. (2008):** Grande guide des huiles essentielles (santé, beauté, bien-être). Bd. Hachette pratique, Italie, 242p.
45. **BRUNETON J., 1999 :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. ; pp : 461 – 769
46. **BRUNETON J., 1999 :** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. ; pp : 461 – 769
47. **EL Abed D, Kambouche N. (2003) :** Les HE. Ed Dar El Gharb Oran.

48. **EL Abed D, Kambouche N. (2003)** : Les HE. Ed Dar El Gharb Oran.
49. **Belaiche P., (1979)**: Traité de phytothérapie et l'aromathérapie, Tome 1, L'aromatogramme Ed. Maloine, .Paris. 136-144.
50. **BRUNETON J., 1999** : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. ; pp : 461 – 769
51. **Lattaoui. (1989)** : Pouvoir antimicrobien des HE trois espèces de thym a profile chimique, différent: thèse de doctorat 3 ème Siècle en microbiologie
52. **Djeddi S., 2012**: Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires ». Presses Académiques Francophones. 265 p.
53. **Dib, M.E.A., et al. 2010**: Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as alternative technique to Hydrodistillation. Chemistry Central Journal, 4(1): p. 16. 45.
54. **Lanfranchi, D.-A., et al. 2010**: Bioactive phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. Journal of agricultural and food chemistry, 58(4): p. 2174-2179.
55. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck , 1765)
56. « Orange » dans le Dictionnaire de l'Académie française, sur Centre national de ressources textuelles et lexicales [consulté le 25 novembre 2016].
57. Alain Blondy, Louis Savoye, Joseph Nicholas Savoye, Le commerce des oranges entre Malte et la France au XVIIIe siècle, Éditions Bouchene 2003.
58. Hendrix et Redd, 1995: Guimaraes et al., 2010.
59. Spiegel-Roy et Goldschmidt, 1996.
60. (BOUSBIA N., 2011)
- 61.
62. RAMFOUL et al., 2010
63. SPIGEL-ROY et GOLDSCHIMIDT, 1996
64. **Mayer A.M. 2004**: Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme. A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on Herbivores and fungal pathogens. Isrel Journal of Plant Sciences. Vol. (52): 279-292
65. **Nauciel C. 2000**: Bactériologie médicale. Masson (Ed).Paris : 276.
66. **Hammoudi R., 2009**: Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la region Tamanrasset. Diplôme de magister. Université d'Ouargla. 130 p.
67. **Guinebert E. Durand P. Prost M. Grinand R. Bernigault R. (2005)**: Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole. Pp : 554-558.

68. **Dacosta, Y. (2003):** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.
69. **Novelli G. P. (1997) :** Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol.* 48 : 517- 527.
70. **Favier A. (2003):** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.
71. **Heller R. Esnaultn R. Delance C. (1998):** physiologie végétale 1-nutrition 6ème edition. Dunod. Paris, Pp 289-288.
72. **Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité en chimie.* 2003; 108-15.
73. **Ardestani A and Yazdanparast R...** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 2007; 104: 21 -29.
74. **Touafek O.** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 2010; 9-12-76.
75. **Marfak A.** Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. 2011; 6-7-27-45
76. **Sevanian A, Nordenbrand K, Kim E, Ernester L and Hochstein P.** Microsomal lipid peroxidation : The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450 .*Free Radic Biol Med.* 1990; 8:145-52
77. **Antwerpen P.V.** Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myeloperoxydase /peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de Doctorat .Université libre de Bruxelles. 2006; 122.
78. **Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité en chimie.* 2003; 108-15.
79. **Pharm Minh D. Gallezot P. Besson M. (2006):** Degradation of olive oil mill effluents by catalytic wet air oxidation. 1. Reactivity of p-coumaric acid over Pt and Ru supported catalysts. *Applied Catalysis Environmental,* 63 : 68–75.
80. **Hadi M. La quercétine et ses dérivés :** molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine : Pharmacochimie, Université Strasbourg. 2004 ; I :155.
81. Halliwell B. Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine,* Ed 4. Oxford: Clarendon Press. 2006.

82. **Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P and Lomri A.** Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases, *Revue du Rhumatisme* . 2007; 74 :636- 43
83. **Hadi M. La quercétine et ses dérivés:** molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine: Pharmacochimie, Université Strasbourg. 2004; I :155
84. **Touafek O.** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algérien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 2010; 9-12-76
85. **Cano N, Barnoud D, Schneider S.M, Vasson M.P, Hasselmann M and Leverve X.** Traité de nutrition artificielle de l'adulte 3 ème édition. 2007; XVII :1189
86. **QUINTERO A., GONZALEZ C.N., SANCHEZ F., USUBILLAGA A. et ROJAS L., (2003).** Constituents and biological activity of *Citrus aurantium amara* L. essential oil . *Acta Horti*, 597, 115 – 117
87. **NOGATA Y., SAKAMOTO K., SHIRATSUCHI H., ISHII T., YANO M. et OHTA H. (2006).** Flavonoid composition of fruit tissue of citrus species. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70 (1), 178-192.
88. **MINH TU N.T., THANK L.X., UNE A., UKEDA H. et SAWAMURA M. (2002).** Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and limepeel oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 169-174.
89. **MOUFIDA S. et MARZOUK B. (2003).** Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*, 62 (8), 1283-1289.
90. **HELLAL Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites de Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou
91. **BOUDRIES H., LOUPASAKI S., LADJAL ETHOUMI Y., SOUAGUI S., BACHI BEY M., NABET N., CHIKHOUNNE A.,MADANI K et CHIBANE M. (2017).** *International Food Research Journal*, 24, 1782-1792
92. **AKIN M., AKTUMSEK A. (2009).** Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, 9, 531-535.
93. **LEFSIH K., RONCALES P., YANGUELA J. et DJENANE D. (2010).** Biological effects of Algerian essential oils and their application in liquid eggs. New challenges in Food preservation., 1-11

94. **CELIKEL N. et KAVAS G. (2008).** Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech Journal of Food Science*, 26, 174-181.
95. **CRISTANI M., D'ARRIGO M., MANDALARI G., CASTELLI, F., SARPIETRO M. G. et MICIELI, D.(2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6300–6308.
96. **HELANDER I.M., ALAKOMI H.L., LATVA-KALA K., MATTILA-SANDHOLM T., POL I., SMID E.J., GORRIS L.G.M. et VONWRIGHT A. (1998).** Characterisation of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (9), 3590-3595.
97. **DORMAN H .J.D et DEANS S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88 (2), 308-316
98. **INOUE S.,TAKIZAWA T. et YAMAGUCHI H. (2001).** Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47, 565-573
99. **DOUKANI K et TABAK S. (2017).** Profil phytochimique de quelques espèces de Citrus (*C. aurantium*, *C. sinensis* et *C. limonum*). *Ecologie-Environnement* 13.
100. **HADDADI H. (2004).** Détermination de l'activité antioxydante de quelques fruits. Mémoire de Magister en Biochimie-Microbiologie. Université Abderrahmane Mira. Béjaia
101. **WANG.W., WU N., ZU Y.G et FU Y.J. (2008).** Antioxydant activity of *Rosmarinus officinalis* oil compared to its main compound. *Food Chemistry*, 108 (3), 1019-1022.

OUBRAHIM. A., AIT KAKI T., AIT KAKI S., BENNADJA S., MANSOURI R et DJEBAR M. (2015). Activité antioxydante et anticandidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* provenant de la région la région d'El Kala. *Algerian Journal of natural products*, 210-216.