

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université KASDI-MERBAH Ouargla

Faculté des sciences appliquées

Département de Génie des Procèdes

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences et Technologies.

Filière : Industries Pétrochimiques.

Spécialité : Génie Pétrochimique.

Présenté par GUEFFAL Soulaf & ZENGUI Mesbah

Thème

Valorisation des huiles essentielles des feuilles de citron

Soutenu publiquement le :

Devant le jury composé de :

Mr. Lotfi Baameur	MAA	Président UKM Ouargla.
Mme. Chaib Hadjira	MAA	Examinatrice UKM Ouargla.
Mr. Segni Laadjel	Pr	Encadreur UKM Ouargla.

Année universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, on remercie Dieu de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

*L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par Monsieur **Segni LADJEL**, Professeur à l'université d'Ouargla. Nous tenons vivement à lui exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour notre sujet de recherche. Nous lui remercions de nous avoir fait confiance et d'avoir été présent aussi souvent que possible malgré ses tâches administratives.*

*Nous adressons nos remerciements aux membres de Jury Mr **Baameur lotfi** et M^{elle} **Chaib Hadjira** qui nous font l'honneur de juger ce mémoire.*

On remercie également nos enseignants pour leurs efforts durant toutes nos années d'étude à l'université et pour leurs soutiens durant la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier le staff administratif du Département de Génie des procédés pour leur souplesse et gentillesse pendant toute la période de nos études.

On remercie plus précisément Nos chers parents pour leur soutien et nos familles.

On remercie nos collègues et amies pour leur soutien.

*On remercie également **GOUDJIL Mohamed Bilal**, et **Siham MEFLAH**. ET tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

Dédicace

Je dédie ce travail :

A Mes Parents pour leur soutien, leur amour et leur sagesse qui m'ont permis d'aboutir au grade de Master en Génie pétrochimie et de devenir la personne que je suis.

A Mon frère redouane et Ma soeur cheima.

A ma famille.

A mes cher amie Salsabil et Katia.

Soulaf

Dédicace

A mon père

Le plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller de l'avant et ne jamais baisser les bras et pour son enseignement continu.

A ma mère

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son Écoute permanente et son soutien.

A mes chers frères et sœurs: pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

A mes fidèles amis : mabrouk, mosbah, mouldi, bachir.

A ma binôme pour lui exprimer mes sincers gratitude.

Mesbah

الملخص:

يهدف هذا العمل الى تثمين الزيوت الطيارة لأوراق الليمون المتواجدة في منطقة فسديس- باتنة واستعمالها في مختلف المجالات مثل الصناعات الغذائية واستخدامها كبديل طبيعي للحفظ .

عملية استخلاص الزيوت الطيارة والتي تمت بطريقة التقطير المائي أعطت مردودا بنسبة 1.22%.

نتائج التحاليل الفزيوكيميائية مطابقة للمعايير الدولية AFNOR.

تم التعرف على التركيب الكيميائي لزيوت الأساسية لأوراق الليمون باستعمال جهاز MS/GC.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الطيارة، اوراق الليمون، الحفظ الطبيعي، MS/GC.

Résumé:

Le but de ce travail est de valoriser les huiles essentielles des feuilles de citron cultivés dans la région de Fesdis à la commune de Batna. Utilisés dans différents domaines tel que dans l'agroalimentaire en tant que conservateur naturel.

L'extraction des huiles essentielles réalisée par hydrodistillation a donné un rendement

1.22 %.

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle sont conformes avec les normes AFNOR.

La composition chimique des huiles essentielles de feuilles de citron a été déterminée à l'aide d'un appareil GC/MS.

Mots-clés : Feuilles de Citron, Huile essentielle, conservation bio, GC/MS.

Listes des figures

Figure	titre	page
1	Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E.	5
2	Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.	5
3	Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des H.E.	6
4	Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes.	10
5	Alambic d'hydrodistillation.	13
6	montage d'extraction par Hydrodistillation.	14
7	montage d'extraction par hydrodiffusion.	14
8	Expression à froids des agrumes.	15
9	les différents types d'extraction par solvants volatils.	16
10	Procédé d'enfleurage.	17
11	La distillation par micro-ondes.	18
12	L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité.	19
13	Protocole d'extraction par hydrodistillation.	26
14	Les feuilles du citron sèches.	28
15	montage d'hydrodistillation utilisé lors d'extraction de l'HE des feuilles de citron.	30
16	protocole de la détermination l'indice d'acide.	32
17	détermination du pH.	32
18	mesure de densité relative à 20°C.	33
19	Réfractomètre.	34
20	L'appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse GC/MS.	35

Listes des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Propriétés organoleptiques des huiles essentielles des feuilles de <i>Citron</i>	37
2	Résultats d'analyse physicochimique d'huile essentielle des feuilles de citron	37
3	composition chimique d'HE des feuilles de citron	39
4	Les produits majoritaires dans l'HE des feuilles de citron	40

Listes des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation.

I_A : indice d'acide.

IR: Indice de rétention.

Cm: Centimètre.

PPM: partie par million.

HE : Huile essentielle.

GC/MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse.

KOH : Hydroxyle de potassium.

pH : Potentiel d'hydrogène.

μ: Micro.

REMERCIEMENTS

RESUME

LISTES DES TABLEAUX, DES FIGURES ET ABREVIATIONS

Introduction générale..... 1

Sommaire

Partie Théorique

Chapitre I: Génialité sur les huiles essentielles

I - Huiles essentielles : Généralités	3
I.1-Historique:	3
I.2-Définition	4
I.2.1-Selon la Commission de la Pharmacopée européenne (2008):	4
I.2.2-Selon BRUNETON (1999) :	4
I.2.3-Selon l'AFNOR « Agence Française de Normalisation » :	4
I.3- Composition des huiles essentielles	5
I.3.1- Les terpénoïdes	5
I.3.2- Les composés aromatiques	6
I.3.3- Les composés d'origines diverses	6
I.3.4- Les chémotypes	7
I.4 la Biosynthèse des huiles essentielles	7
I.4.1 La biosynthèse des huiles essentielles.....	7
I.4.2- Voie des Terpenoïdes	7
I.4.3- Voie des Phenylpropanoïdes.....	8
I.5- Facteurs de variabilité.....	8
I.5.1 Origine botanique	8
I.5.2 L'organe producteur	8
I.5.3 Origine géographique.....	9
I.6- Propriétés physiques des HE	9
I.7 Localisation des huiles essentielles Les HE	10

Chapitre II: Techniques d'extraction des huiles essentielles

II.1 Introduction.....	12
II.2-Les principales méthodes d'extraction:	12
II.2.1- Hydrodistillation	12
II.2.2-Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	13

II.2.3-L'hydrodiffusion.....	14
II.2.4-Expression à froid:	15
II.2.5-Extraction par solvants	15
II.2.6-L'enfleurage	16
II.2.7-Extraction assistée par Micro-ondes	17
II.2.7.1-Extraction par solvant assistée par micro-ondes.....	17
II.2.7.2-La distillation par micro-ondes	17
II.2.7.3-L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité.....	18

Chapitre III : Les conservateurs naturels cas de citron

III.1-Introduction.....	21
III.2-Activité antioxydant des huiles essentielles.....	21
III.3-Huile essentielle des feuilles de Citron.....	22
III.4-Agents acidifiants et antioxydants	22
III.5-Application des H.E dans les produits alimentaires	23

Partie Expérimentale

Matériels et Méthodes

1-La Récolte de la plante:	28
2-Matériels.....	28
2.1-Matériel végétal	28
2-2Matériels de laboratoire et produits et appareillages utilisés	28
3- Principe et procédé d'hydrodistillation.....	29
4-calcul du rendement:	30
5-Etude qualitative et quantitative de l'HE des feuilles de citron	31
5.1-caractéristiques physico-chimiques de l'HE	31
5.1.1- Mesure des indices chimiques	31
5.2-. Mesure des grandeurs physiques	33
6-Analyses par chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse GC/MS	35
1-Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de Citron.....	37
2-Analyses physico-chimiques:.....	37
3-Détermination de la composition chimique d'HE.....	38
Conclusion générale	41

Références bibliographiques	43
Annexes	45

Introduction générale

Introduction générale

Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles et leurs extraits. Les plantes sont aromatiques lorsqu'elle contient des substances odorantes volatiles appelées « l'huile essentielles » que l'on peut obtenir suivant des techniques connues. Les plantes aromatiques sont utilisées dans la cuisine, l'industrie alimentaire, la cosmétique et la parfumerie où leur saveur et leur odeur. Ces plantes sont appelées aromatiques et médicinales si leur usage est dans le but de se soigner grâce aux propriétés de ses huiles essentielles comme principe actif médicamenteux, c'est-à-dire elles possèdent une action thérapeutique [1].

De nos jours, les huiles essentielles suscitent de plus l'intérêt des chimistes, biologistes,...et médecins en raison de leurs utilisations dans traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation d'aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimiques de synthèse [2].

L'objectif principal visé par ce travail est de valoriser les huiles essentielles de citron est utilisés dans différents domaines tel que dans l'agroalimentaire en tant que conservation bio.

Et en suit faire les analyses physico-chimiques, afin confirmer la composition chimique on a utilisé la GC/MS.

Ce présent document est présenté en deux parties, une théorique et l'autre pratique.

Renferme trois chapitres, le premier aborde des généralités sur les huiles essentielles.

Deuxièmement on a parlé des différentes méthodes et techniques d'extraction des huiles essentielles.

Troisièmement on a présenté les conservateurs naturels CAS de citron.

Dans la partie expérimentale on a extrait les huiles essentielles des feuilles de citron ensuite on a établi les analyses physico-chimiques et analyse par GC/MS.

Enfin, présentation de nos résultats et discussions. On termine notre travail avec une conclusion générale.

Chapitre I:

Généralité sur les huiles essentielle

I - Huiles essentielles : Généralités

I.1-Historique:

L'utilisation des huiles essentielles sont des fins diverses depuis des millénaires, les plantes aromatiques ont toujours été tenues en haute estime par les thérapeutes du monde entier.

L'histoire des (P.A.M.) plantes aromatiques et médicinales est lie à l'évolution des civilisations.

L'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours une importance en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles H.E datent de l'an 3000 avant J.C [3]

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches [4].

L'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des huiles essentielles, peut se résumer en quatre époques suivantes :

- L'époque au cours de laquelle étaient utilisées des plantes aromatiques telles quelles ou sous forme d'infusion ou de décoctions.
- Celle dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante.
- La troisième correspond à la recherche de l'extraction de cette substance odorante. Il apparaît le concept " Huile essentielle " qui aboutit à la création et au développement de la distillation.
- En fin, la dernière qui est la période moderne dans laquelle les connaissances des composants des huiles essentielles interviennent et expliquent les effets physiques, chimiques, biochimiques, et physiologiques.

Au cours des dernières années, l'Amérique du Nord a montré un grand intérêt à l'utilisation des plantes médicinales pour plusieurs raisons :

- Elles sont moins coûteuses par rapport aux médicaments de synthèse.
- La médecine moderne n'arrive pas à trouver des remèdes à tous les maux. Voilà ce qui rend le public se sent déçu et recourir aux plantes médicinales.
- Enfin, les preuves scientifiques de la valeur médicinale des plantes constituent d'ailleurs un argument de taille pour leur usage en médecine. [3].

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 HE dont 300 sont commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances. Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement des nouvelles applications des propriétés naturelles des HE dans différents domaines [5].

I.2-Définition

I.2.1-Selon la Commission de la Pharmacopée européenne (2008):

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [6].

I.2.2-Selon BRUNETON (1999) :

Les huiles essentielles sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incisions des végétaux qu'ils les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire [7].

I.2.3-Selon l'AFNOR « Agence Française de Normalisation » :

AFNOR NF T 75-006 (février 1998) Elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première végétale: soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe de citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple ; redistillation, aération,)[8].

I.3- Composition des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants est due exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques sont : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane [9].

I.3.1- Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Les terpénoïdes Dans les huiles essentielles, sont celles qui ont la masse moléculaire n'est pas élevée c'est à dire, ceux dont les molécules les plus volatils. Ils portent dans la plupart des cas la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n =1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. 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 [9].

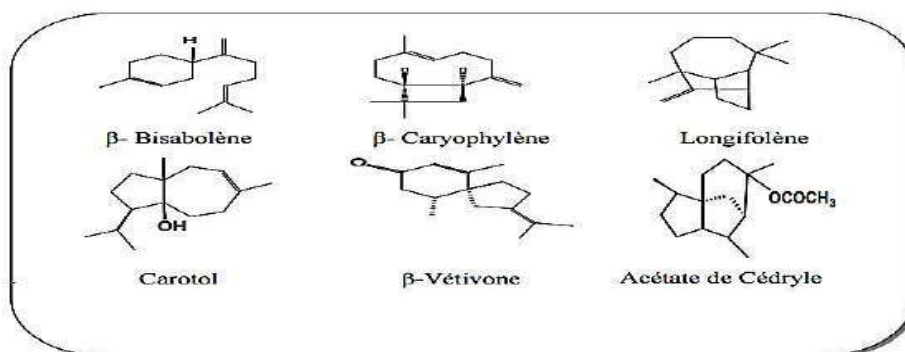


Figure 01 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E

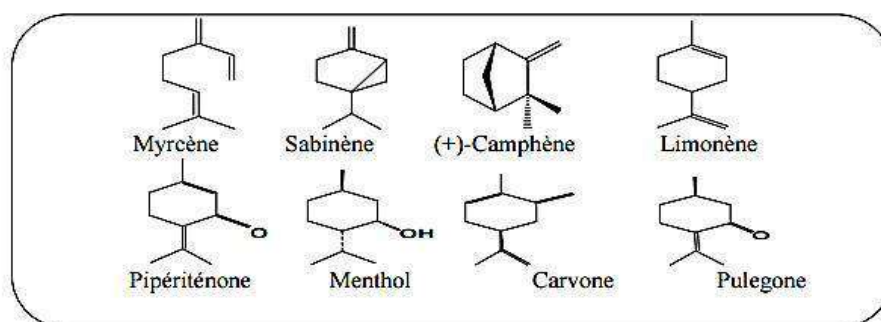


Figure 02 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.

I.3.2- Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins de présence dans les huiles essentielles. Mais il est considéré comme un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol [9].

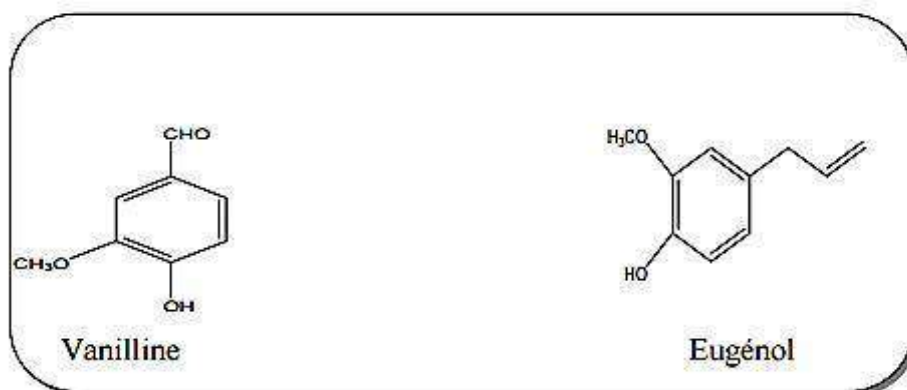


Figure 03 : Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des H.E

I.3.3- Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras [9].

Alcools : Menthol, géraniol, linalol,...

Aldéhydes : Géraniol, citronellal,...

Cétones : Camphre, pipéritone Phénols: Thymol, carvacrol ... Esters : Acétate de géranyle,...

Acides : Acide gérannique,...

Oxydes : 1,8-cinéole,...

Phénylpropanoïdes ; Eugénol.

Terpènes : Limonène, para-cymène,...

Autres : Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène,...

I.3.4- Les chémotypes

La connaissance des chémotypes d'une huile essentielle et leur comportement est nécessaire car elle permet de concevoir l'activité pharmacologique, de prévoir aussi la pharmacocinétique et la biodisponibilité. La composition chimique de l'huile essentielle pour une même espèce botanique n'est pas immuable. Les huiles essentielles sont élaborées par les plantes aromatiques au sein des cellules sécrétrices. Leur élaboration est dépend entièrement du rayonnement solaire. Son absence affecte le rendement des produits aromatiques et leur nature. En sa présence, et tout particulièrement en fonction de la présence de tel ou tel rayonnement, les types de composants pourront varier considérablement au sein d'une même espèce. Par exemple, le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar a un taux de chavicol de 57% alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière en contient 74% [10]. Cette variabilité peut être influencée également par la composition du sol et la position géographique; le *Lippia mutiflora* récoltée au Togo a révélé les chémotypes à citral, à thymol (acétate de thymyle), à para-cymène, à 1-8 cinéole [11].

I.4 la Biosynthèse des huiles essentielles

I.4-1 La biosynthèse des huiles essentielles

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies [12] :

I.4.2- Voie des Terpenoïdes

Le matériau de base est l'IPP (isopentylpyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbones ayant une structure semi- alvéolaire. Il est dérivé de l'Acétyl (carrefour important), lui-même issu du PEP (phosphoenolpyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonés a lieu de la même manière par la juxtaposition "tête à queue" d'unités isopréniques, unités pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpènes), puis à quinze carbones (sesquiterpènes) et plus rarement, à vingt carbones (diterpènes). Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences.

I.4.3- Voie des Phenylpropanoïdes

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phenylpropanoïdes commence par un métabolite du fructose, le PEP (phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants: acides salicylique, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont la salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines,... Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluse dans cette voie.

I.5- Facteurs de variabilité

Des travaux de recherche ont prouvé que la composition chimique des huiles essentielles est très fluctuante. En effet, elle dépend de deux grands axes; ordre naturel (génétique, localisation, maturité, sol, climat, etc...) ou technologiques (mode de culture ou d'extraction d'huile essentielle de la plante), dont nous citons les plus importants [3]:

I.5.1 Origine botanique

La composition d'une H.E varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique, par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclarée (*Salvia sclarea*), Et cela peut être vendu à la fois sous le nom de l'huile de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptisants [3].

I.5.2 L'organe producteur

La composition et le rendement d'une huile essentielle varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extradite [3]

I.5. 3 Origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine. La composition chimique des huiles essentielles d'une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol peut être différente. Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyl la remplacera en été [3].

I.6- Propriétés physiques des HE

Selon (Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978 ; Lemberg, 1982 ; Bruneton, 1999), les HE possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques [13] :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la pluparts des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau (mais entraînable à la vapeur d'eau) à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeurs.
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Leur densité est en générale inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les HE de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont douées de pouvoir rotatoire, dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinolides, très odorantes et volatiles même à température ambiante (ce qui les différencie des huiles fixes).
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huile essentielle à azulène de coloration bleue

I.7 Localisation des huiles essentielles Les HE

N'existent quasiment, que dans les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques [14]:

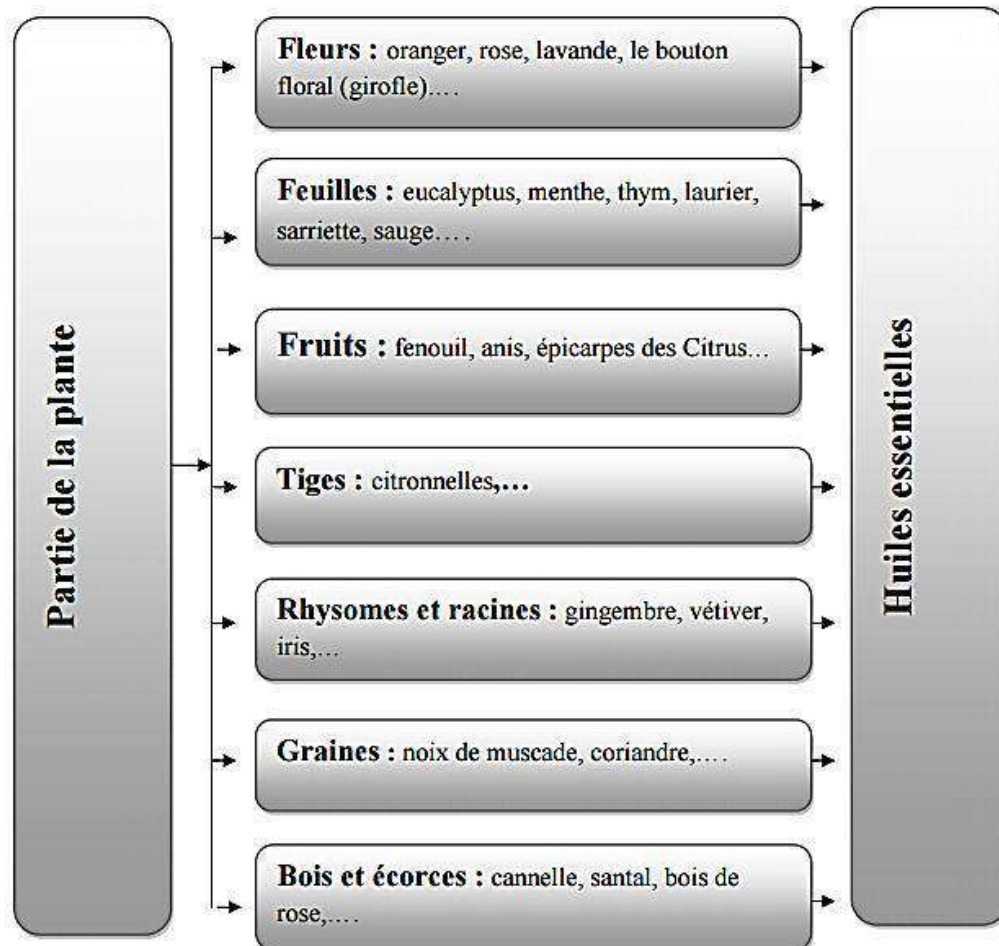


Figure 4: Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes

Chapitre II:
Techniques d'extraction des huiles
essentielles

II.1 Introduction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières et à la sensibilité considérable de leurs certains constituants. Le choix de 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 et de l'usage de l'extrait.

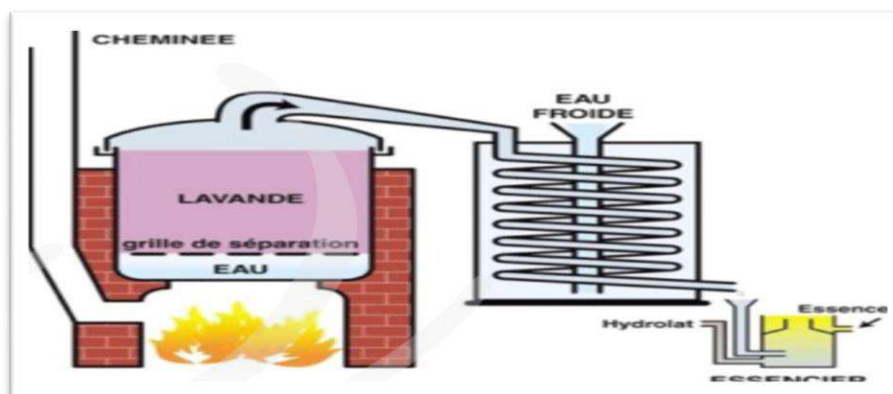
II.2-Les principales méthodes d'extraction:

II.2.1- Hydrodistillation

C'est la technique la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger la matière première directement dans l'eau, puis l'ensemble est porté à ébullition. L'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération par courant d'eau. Lors de la distillation des H.E, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production de ces essences végétales (voir fig5).

Les expérimentations conduites jusqu'à épuisement du substrat en essence montrent que la durée de la distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées. Cette différence est fortement liée à la localisation des systèmes d'élaboration ou de stockage des H.E qui sont soit à la surface ou à l'intérieur des tissus de la plante. De ce fait, ces structures ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée de l'opération d'extraction.

Dans le cas où ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule sont rapidement rompues lors de l'ébullition, les composés volatils sont immédiatement évaporés. Lorsque les H.E sont sous-cutanées, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur pour qu'elles puissent s'évaporer comme dans les sécrétions superficielles [15].



Figuer5: Alambic d'hydrodistillation

II.2.2-Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est la technique la plus couramment utilisée pour la fabrication des HE. C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters). Dans cette méthode, la **matière végétale n'est pas en contact avec l'eau** (voir fig6). Cette opération s'accomplit dans un alambic. Un flux de vapeur d'eau traverse une cuve remplie de plantes aromatiques disposées sur des plaques perforées. Le but consiste à emporter avec la vapeur d'eau, les constituants volatils de la plante aromatique. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. Cette vapeur doit être juste assez chaude pour permettre le relâchement de l'HE, mais pas trop pour ne pas brûler l'élément végétal ou altérer l'HE. À la sortie de la cuve, cette vapeur traverse un serpentin pour être refroidie. [16]. On obtient après refroidissement de l'eau liquide surmontée d'une couche d'huile essentielle insoluble dans l'eau. (Les HE ont une densité inférieure à l'eau donc elles flottent à la surface). Cette étape se fait dans un essencier (vase de décantation).

Pour que la vapeur soit produite, la pression doit dépasser celle de l'atmosphère. Dans ces conditions, le point d'ébullition se situe au-dessus de 100°C, ce qui permet d'extraire plus vite l'HE tout en empêchant sa dégradation [17].

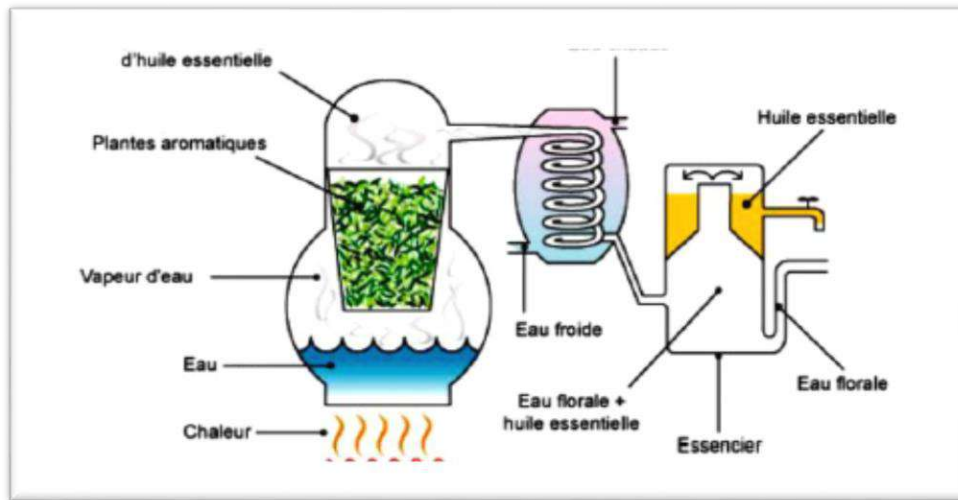


Fig6: montage d'extraction par Hydrodistillation.

II.2.3-L'hydrodiffusion

Est une forme de distillation à la vapeur, mais contrairement aux autres systèmes de distillation, la vapeur est introduite par le haut pour passer à travers la matière végétale. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale [18].

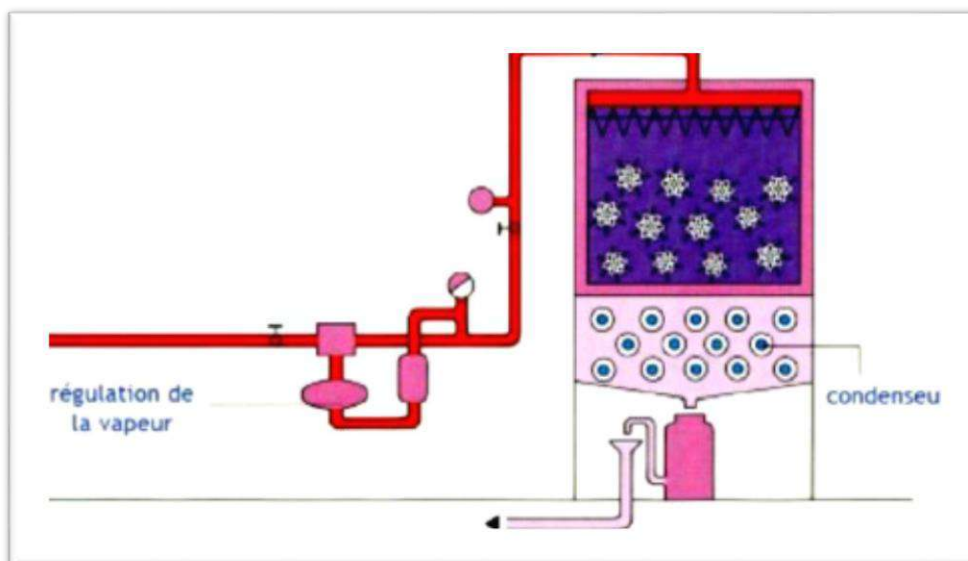


Fig.07: montage d'extraction par hydrodiffusion

II.2.4-Expression à froid:

On appelle cette méthode d'extraction «pression à froid», car elle n'implique aucune chaleur. La plupart des huiles essentielles de noix et de graines et d'agrumes sont extraites par pression à froid. En général, cette méthode produit des huiles de bonne qualité. Le procédé consiste à soumettre la matière à une grande pression mécanique. (Voir Fig.8)

De tous les procédés d'extraction par pression, la méthode la plus répandue est sans conteste l'extraction à l'éponge. Dans le passé, cela se faisait à la main. On retirait la pulpe, l'écorce et le cœur du fruit puis on trempait le tout dans l'eau tiède pour rendre l'écorce plus souple. En absorbant l'eau, le fruit devient plus élastique. On retourne le fruit, ce qui brise les cellules d'huile. On presse ensuite l'écorce sur une éponge pour exprimer l'huile volatile. Celle-ci est ensuite recueillie dans un récipient avant d'être décantée [19].



Fig8: Expression à froids des agrumes.

II.2.5-Extraction par solvants

La technique d'extraction par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ».

Chapitre II: Techniques d'extraction des huiles essentielles

- Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation.
 - L'intervention de solvants organiques qui peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer.
 - Le choix du solvant : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane.
- Cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons [20].

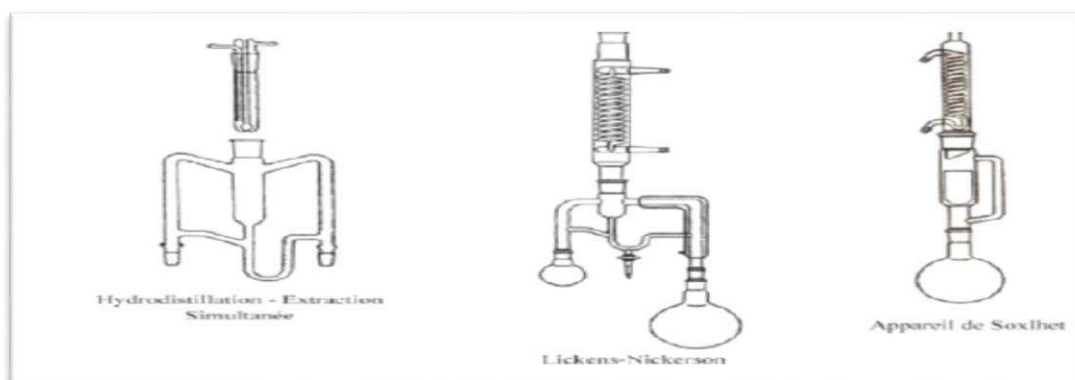


Fig.09 : les différents types d'extraction par solvants volatils.

II.2.6-L'enfleurage

L'enfleurage est une technique assez difficile. Elle date de l'antiquité égyptienne et est basée sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses. Elle est réservée principalement aux organes fragiles que sont les fleurs (violette, tubéreuse, jasmin,...).

Les fleurs sont étalées sur des châssis enduits de graisses inodores où le parfum des fleurs est absorbé par les graisses jusqu'à saturation. Les fleurs sont renouvelées régulièrement (toutes les 24 heures pour les jasmins ou toutes les 72 heures pour la tubéreuse). L'opération est terminée quand un kilo de la matière grasse est saturée par deux à trois kilos de fleurs. Elle peut durer environ un mois. On fait alors fondre la pommade qui sera décantée et elle sera ensuite traitée à l'alcool et à froid. (Voir Fig.10) [15].

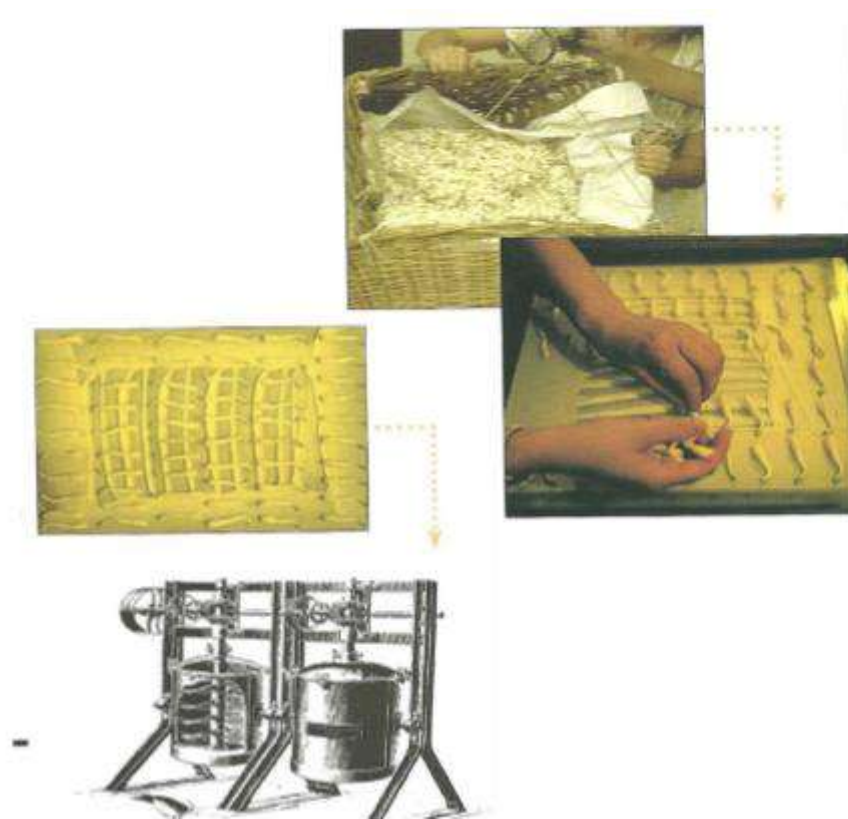


Fig.10: Procédé d'enfleurage

II.2.7-Extraction assistée par Micro-ondes

II.2.7.1-Extraction par solvant assistée par micro-ondes

Cette technique a d'abord été utilisée pour l'extraction de produits alimentaires (agrumes, plantes aromatiques, céréales ...). La technique repose à irradier le matériel végétal en présence d'un solvant transparent aux micro-ondes tel que l'hexane. Ainsi les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal.

II.2.7.2-La distillation par micro-ondes

Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant

Chapitre II: Techniques d'extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation (voir Fig.11).

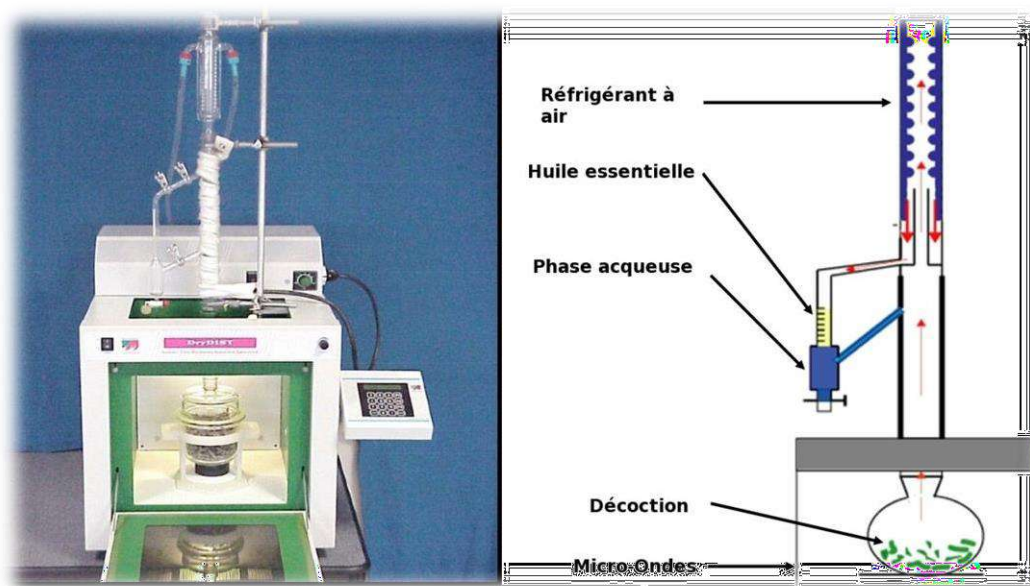


Fig.11: La distillation par micro-ondes [21].

II.2.7.3-L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité

Cette nouvelle technique d'extraction a pour origine un alambic renversé, utilisant le chauffage micro-ondes en combinant la gravité à pression atmosphérique ou sous pression réduite. Selon ce procédé, la matière végétale fraîche est placée directement dans un réacteur micro-ondes sans ajout de solvant organique ni d'eau. Le chauffage de l'eau de constitution de la matrice provoque un éclatement des cellules de la plante et conduit au relargage des métabolites secondaires. De cette manière, l'action des micro-ondes permet de libérer l'eau intrinsèque du végétal et les métabolites secondaires qui sont transférés de l'intérieur vers l'extérieur de la matière végétale par hydrodiffusion. Ce mélange est ensuite condensé et recueilli à l'aide d'un système de réception utilisant le principe du vase Florentin. L'huile essentielle et l'eau de constitution sont ensuite séparées par simple différence de densité. Il est important de noter que cette méthode verte permet d'extraire les huiles essentielles sans distillation et sans évaporation, qui sont les deux processus les plus consommateurs d'énergie.



Fig12: L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité [21].

Chapitre III : Les conservateurs naturels cas de citron

III.1-Introduction

La qualité microbiologique d'un aliment constitue l'une des bases essentielles de son aptitude à satisfaire la sécurité du consommateur. Un aliment, exposé à la détérioration par les micro-organismes peut voir une diminution de ses caractéristiques sensorielles, nutritives et sanitaires [22].

Des quantités substantielles de produits alimentaires stockés sont attaquées par des bactéries et des moisissures dans le monde entier. En particulier dans les pays en voie de développement, les aliments stockés subissent des dommages sérieux, menant à de grandes pertes économiques et au risque sanitaire [23].

Pour faire face aux problèmes d'oxydation et de contamination des denrées alimentaires, l'essor de la chimie a permis l'apparition et l'utilisation de nouvelles substances en tant que conservateurs alimentaires synthétiques. Ces derniers ont été employés couramment pour empêcher la détérioration des aliments. Par la suite, l'utilisation de plusieurs conservateurs synthétiques a été limitée ou interdite dans plusieurs pays, en raison de leurs effets toxicologiques indésirables à long terme, y compris la cancérogénicité. De même, la tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle a incité la recherche, le développement et l'application de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobienne et antioxydant dans le but de les utiliser comme alternatives aux conservateurs synthétiques dans le domaine des industries agro-alimentaires [23].

Les plantes aromatiques ont été traditionnellement employées pour l'assaisonnement et la prolongation de la durée de conservation des aliments. La plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles produites par leur métabolisme secondaire. Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique [23].

III.2-Activité antioxydant des huiles essentielles

Des études de l'équipe du Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA), ont montré que l'incorporation des huiles essentielles ou l'application par vaporisation en surface des aliments, contribue à les préserver des phénomènes d'oxydation.

Parmi ces huiles, les huiles essentielles des Citrus. Elles sont caractérisées par une teneur élevée en monoterpènes dont le D-limonène est le constituant majeur, jouant un rôle principal dans l'activité antioxydant. Ont démontré que les HE de Citrus ont un pouvoir antioxydant très important. A cet effet, a substitué l'antioxydant synthétique par l'HE du Citrus limon à une concentration de 100 ppm dans la margarine démontré que des concentrations des huiles

essentielles allant de 500 à 3000 ppm de l'HE de Citrus ont réduit de manière significative l'oxydation des lipides de la sardine [24].

III.3-Huile essentielle des feuilles de Citron

Cette huile essentielle, préparée à partir des de citron est un peu moins riche en carbures monoterpéniques que celle d'orange amère (92 à 95%) et sa teneur en limonène oscille entre 60 et 75 % ; ce carbure monocyclique est accompagnée d'environ 8- 12% de β -pinène et 8-10% de γ -terpinène (valeurs moyennes). On note la présence d'aldéhyde aliphatique (0,2-0,5 %, nonanal, octanal) et d'aldéhyde monoterpénique (2-3%, gèranial, néral, citronellal) [26].

III.4-Agents acidifiants et antioxydants

Un additif conservateur est défini comme étant une substance non consommée normalement en tant que denrée alimentaire, que l'on incorpore à un aliment en vue d'accroître sa sécurité et sa stabilité microbiologique [26].

Quelques additifs conservateurs dans le citron: [27].

- L'acide citrique (E330) et ses sels: l'acide citrique se place largement en tête des acides organiques utilisés par l'industrie agroalimentaire. Obtenu autrefois par extraction à partir de sources naturels, l'acide citrique, antioxydant et acidulant, permet d'abaisser le pH à un seuil qui empêche la croissance des micro-organismes.

- L'acide ascorbique (E300) et ses sels : -l'acide ascorbique est un antioxydant, acidifiant séquestrant et renforçateur de goût. Etant donné qu'il s'agit d'une vitamine, aucune restriction ne pèse sur l'utilisation de l'acide lui-même et de ses sels.

-vitamine c: le citron est riche en vitamine c il est ajouté aux aliments comme antioxydant pour assurer une meilleure conservation des aliments.

-D-limonène: un monoterpène naturel est le constituant majeur des huiles essentielles de citron, il est largement utilisé en cosmétiques, dans les aliments et les produits de consommation, en raison, d'une part, de son activité antibactérienne, antioxydant, chimio-préventive et anticancérigène voir même anti diabétique. D'autre part, le D-limonène est classé dans la liste des substances GRAS (Généralement considéré sain), qui le rend utile en tant que conservateur naturel et aromatisant dans les industries agroalimentaires.

III.5-Application des H.E dans les produits alimentaires

Pour choisir les H.E comme conservateurs alimentaires, il convient de connaître le seuil (2%) d'efficacité (la concentration la plus faible en H.E capable d'inhiber toute croissance microbienne), car selon l'effet recherché et les bactéries ciblées, la concentration ne sera pas la même. Chaque H.E possède une activité spécifique variable selon les microorganismes, les conditions de stockage de l'aliment (le pH, la température, pression d'oxygène etc.) ou la nature des aliments peuvent avoir une influence sur l'action des H.E. Ainsi, la généralisation de l'utilisation des H.E n'est pas facilement envisageable à tous les aliments. Mais le recours aux H.E s'avère être un choix pertinent à la nécessité de réduire ou de remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques. Dans le but d'augmenter la durée de conservation des différents types d'aliments, par exemple l'usage simultané de plusieurs facteurs de conservation sous forme de systèmes combinés pourrait être très utile pour potentialiser l'efficacité de chaque facteur individuel. La notion de synergie entre les systèmes antioxydants et antimicrobiens est aussi une alternative intéressante. Voir même un procédé incontournable pour mieux sécuriser les produits vis-à-vis des germes pathogènes et, contre les phénomènes d'oxydation lipidique ont rapporté que les H.E peuvent être ajoutées pratiquement à tous les aliments. Les huiles essentielles de citron sont efficaces pour les viandes, les volailles, et la charcuterie et les poissons, L'incorporation d'H.E dans la viande hachée a contribué au maintien de la qualité microbiologique et à la réduction de l'oxydation lipidique au-delà de sa durée normale d'entreposage [27].

Partie pratique

Protocole expérimental



Feuilles de citron



hydrodistillation



analyses physico-chimiques

analyse par GC/MS



Fig13: Protocole d'extraction par hydrodistillation.

Matériels et Méthodes

1-La Récolte de la plante:


Les feuilles ont été récoltées dans la ville d’Batna (Fesdis), durant la période du Mois de Février 2021.

2-Matériels

2.1-Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans la présente étude est par les feuilles du citron (**figure 14**)

Séchées pendant 3 jours, a l'abri de la lumière et la température ambaine.

	Classification botanique
	<p>Règne: Plantae</p> <p>Division: Magnoliophyta</p> <p>Classe: Magnoliopsida</p> <p>Ordre: Térébenthales</p> <p>Famille: Rutaceae</p> <p>Genre: Citrus</p>
<p>Figure 14: Les feuilles du citron sèches</p>	

2-2Matériels de laboratoire et produits et appareillages utilisés

Appareillages et équipements:

- Balance sensible KERN ALS 220-4N
- Chauffe ballon 2000 ml
- Agitateur magnétique
- Réfractomètre
- Densimètre
- Micro seringue 250 µl

Verreries:

- Bécher
- Flacons
- Pipettes pasteurs
- Papiers wattmen (n°3)
- Anse de platine
- Pipettes
- Erlenmeyer
- Poire
- Burette, de 25 ml de capacité, graduée en 0,1 ml.
- Balance analytique, précise à 0,0001 g près.
- Papier pH

Les produits

- Eau distillé
- Ethanol
- Chlorure de Sodium « NaCl »
- Hydroxyde de potassium « KOH »
- Phénolphthaléine

3- Principe et procédé d'hydrodistillation

Notre travail est réalisé au LGP (laboratoire de Génie des Procédés) de l'Université d'Ouargla.

Dans cette partie on a fait une extraction des huiles essentielles des feuilles de citron par hydrodistillation (Fig. 15) selon le mode d'extraction suivant:

- On a mis 200 g des feuilles de citron dans un ballon de 2 litre (2/3 plante et 2/3 eau) On a placé le ballon dans un chauffe ballon, on a réglé la température à 100 °C
- Après 3 heures d'extraction on a obtenu deux phases huile essentielle et hydrolat



Figure15: montage d'hydrodistillation utilisé lors d'extraction de l'HE des feuilles de citron

4-calcul du rendement:

Selon la norme **d'AFNOR (1986)**, le rendement en HE est le rapport entre le poids de l'HE extraite et le poids de la biomasse végétale utilisée. Le rendement est exprimé en pourcentage (%), calculé par la formule suivante:

$$R = (m_h / m_p) \times 100$$

R:rendement en HE des feuilles du citron

M_h: masse de l'HE obtenue en gramme

M_p: Masse de la plante des feuilles de citron en gramme (100g).

- La conservation de l'HE exige certaines précautions indispensables. Une fois l'HE est obtenue elle est conservée dans un flacon en verre enveloppé de papier aluminium fermé hermétiquement, à une température comprise entre 4 et 6°C pour la préserver de l'air et de la lumière et éviter toute dégradation d'HE.

5-Etude qualitative et quantitative de l'HE des feuilles de citron

5.1-caractéristiques physico-chimiques de l'HE

Les propriétés physico-chimique tels que: l'indice réfraction, l'indice d'acide,...ect. Constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Ces caractéristiques ont été déterminées selon la nomes l'association française de normalisation (**AFNOR, 2000**):

5.1.1- Mesure des indices chimiques

a. Détermination de l'indice d'acide

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE. Les acides libres sont neutralisés par une solution Ethanol titrée d'hydroxyde de potassium, c'est-à-dire la mesure de l'indice acide réalisée par titrage [28].

Mode opératoire

A l'aide d'une balance analytique, Peser 56 mg de KOH puis on les met dans 100 ml d'éthanol, puis on agite vigoureusement pour bien homogénéiser. On introduit 1g de l'HE un bécher. On ajoute 10 ml d'éthanol neutralisé et 3 gouttes au maximum d'indicateur, soit la solution de Phénolphthaléine. Titrer le liquide avec la solution de KOH contenue dans la burette quelques secondes. Après le virage de la couleur vire vers le rose, on arête le titrage. Noter le volume de solution de KOH utilisé.

Méthode de calcul

L'indice d'acide (IA) est donné par l'équation suivante :

$$IA = V \cdot 5,61 / m$$

Où :

V : est le volume, en millilitres, de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage

m : est la masse, en grammes, de la prise d'essai. Exprimer le résultat à une décimale près.

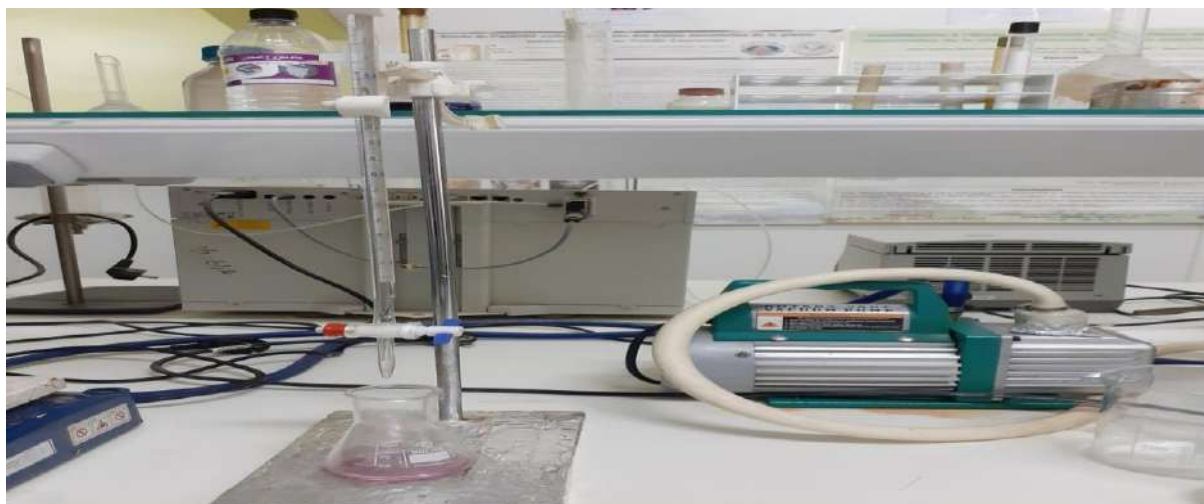


Fig. 16: protocole de la détermination l'indice d'acide.

b-Mesure du pH

pH est l'abréviation du potentiel d'hydrogène qui mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H^+) (appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7 et basique s'il est supérieur à 7.

Mode opératoire

On a mis quelques gouttes des HE de chaque plante sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.



Fig .17 : détermination du pH.

5.2-. Mesure des grandeurs physiques

a-Mesure de densité relative à 20°C

La densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse égale du volume d'eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est **d20** [28].

Mode opératoire

Prenez une aiguille est vides et peser ensuite on prendre 2 ml le volume d'huile et peser On la valeur de la masse d'huile qui obtenait après, on applique dans la loi de la masse volumique

Méthode du calcul

On calcul la densité relative à 20 °C d'une HE par division de l'HE à n'importe quelle température en (g/ml) sur la masse volumique d'eau distillée à 20 °C en (g/ml), en ajoutant le facteur de correction 0,00073 par degré. La formule générale de calcul de la densité relative à 20° C est la suivante:

$$d_{20} = (\rho_{HE} / \rho_{eau \text{ à } 20^{\circ}C}) + (0,00073 (\text{tech} - 20))$$

ρ_{HE} : masse volumique.

ρ_{eau} : masse volumique à 20°C.

Tech: température de l'échantillon lors de mesure.



Fig.18 : Mesure de la densité relative à 20°C.

b- Mesure de l'indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. La mesure de l'indice de réfraction dont le symbole n_D est de nécessité l'utilisation d'un réfractomètre d'ABBE à l'angle limité de réfraction [28].

Mode opératoire

On ouvre le prisme secondaire puis on dépose 2 ou 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal. Ensuite on ferme doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince. On laisse attendre que la température soit stable pour effectuer la mesure. La valeur de mesure pour un échantillon liquide étant modifiée suivant le changement de température, lire l'indicateur de température pour connaître le degré de mesure réelle, et le joindre sans faute à la valeur mesurée.

Méthode de calcul

L'indice de réfraction, à la température de référence 20 °C, est donné par l'équation suivante :

$$n_D = I + 0,0003 (t' - 20 \text{ °C})$$

Où

I: est la valeur de lecture, obtenue à la température

T: à laquelle a été effectuée la détermination. Exprimer le résultat avec quatre décimales.



Fig.19 : réfractomètre.

6-Analyses par chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse GC/MS

L'analyse de l'HE de feuilles de citron a été réalisée au L.G.P (laboratoire de génie des procédés) à l'Université Kasdi Merbah Ouargla. le chromatographe adopté est un Bruker SCION 436 GC, couplé à une masse tension d'ionisation quadripolaire du spectromètre de 70ev. La colonne qui est utilisé est un HP-5MS ; 5% Phenyl Methyl Siloxane avec une longueur de 30 m et un diamètre intérieur de 0,25 mm. L'épaisseur du fil étant de 0,25 mm.

-Les conditions de fonctionnement sont :

- La température de l'injecteur (mode split 1:50) : 250 °C

- Programmation température : de 50 °C à 280 °C à raison de 5 °C/min.

- Le gaz vecteur utilisé est de l'hélium (99.9999) avec un débit de 1,2 ml/min

-Les températures de la source quadripolaire sont fixes, respectivement à 250 °C et 280 °C.

Indices de rétention linéaire (RI) pour tous les composés

ont été déterminés en utilisant des n-alcanes comme étalons. L'identification des composés individuels a été réalisée par match-leurs schémas de fragmentation spectrale de masse avec les données disponibles (bibliothèque Wiley 275 (6e édition)). (NIST 2014)

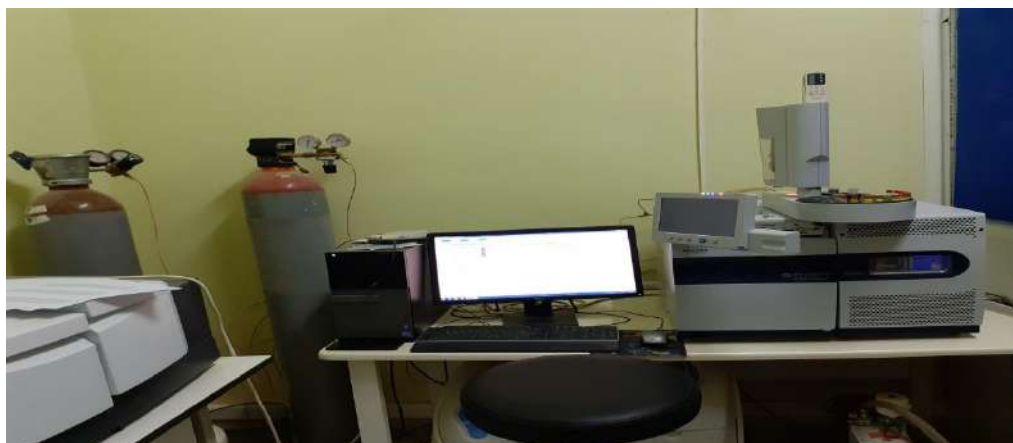


Fig.20: L'appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse GC/MS

Résultats et discussions

1- Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de Citron

-Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielle aspect, couleur, odeur sont résumé dans le tableau suivant :

Tableau 1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles des feuilles de *Citron*

	Aspect	Couleur	Odeur
Les Huiles essentielles des Feuilles de citron	Liquide limpide, fluide et mobile	Jaune très pâle à transparent	Fraîche et épicée

2-Analyses physico-chimiques:

-Les résultats des analyses physico-chimiques de huile essentielle de feuilles de *Citron* et sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau 2. Résultats d'analyse physicochimique d'huile essentielle des feuilles
De citron

Analyses physico-chimique	feuilles	Norme AFNOR
Rendement	1.22	0.5-2
pH	6	Acide faible
Densité	0.908	0.905-0.921
Indice de réfraction	1.4770	1.4600-14760
Indice d'acide	2.80	0.5-3.00

Ces résultats ont montré que nos huiles sont conformes avec ceux de la norme AFNOR ISO 3140. Association Française de Normalisation et Organisation du Système Français.

3-Détermination de la composition chimique d'HE.

Les résultats des analyses par et CG/SM de l'huile essentielle extraite de la feuilles de citron sont présentés dans le Tableau 4. 38 constituants sont identifiés représentant un total de 95,93 % de cette essence.

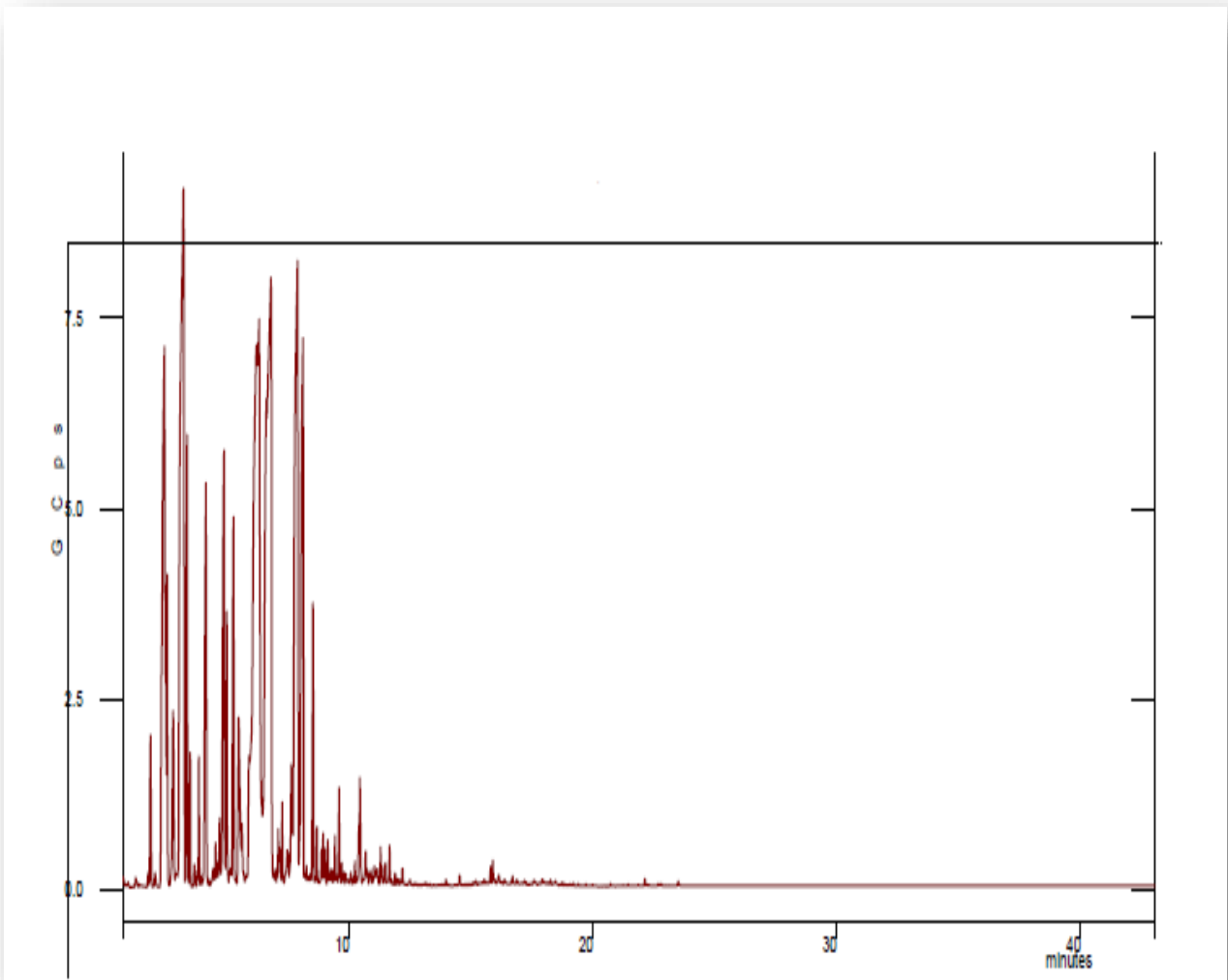


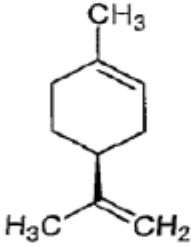
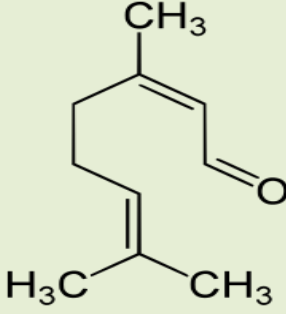
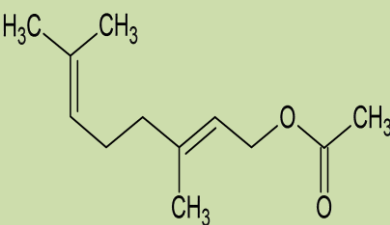
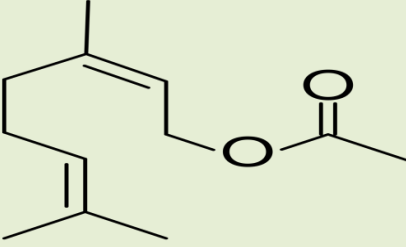
Figure13: Chromatogramme en GC/SM de HE de feuilles de citron

Tableau3 : composition chimique de HE des feuilles de citron

Compound Name	RT	Area %	Composition majoritaire
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 3,6,6-trimethy	1.828	0.79	
Camphene	2.018	0.09	
.beta.-Pinene	2.398	8.00	β-Pinene
.beta.-Myrcene	2.510	1.43	
3-Carene	2.758	1.39	
Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethen	3.180	13.01	D-Limonene
.beta.-Ocimene	3.325	2.11	
.gamma.-Terpinene	3.456	0.47	
Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethen	3.629	0.12	
Linalool	4.103	3.28	
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methyl	4.407	0.14	
cis-(-)-1,2-Epoxy-p-menth-8-ene	4.498	0.17	
(+)-(E)-Limonene oxide	4.561	0.11	
6-Octenal, 7-methyl-3-methylene-	4.666	0.39	
6-Octenal, 3,7-dimethyl-, (R)-	4.841	3.33	
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-,	5.123	0.16	
3,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-	5.230	2.17	
2-Pentadecyn-1-ol	5.583	0.39	
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	6.181	11.73	α-citral
Geraniol	6.385	0.46	
Undecanal	7.071	0.18	
2-Methoxy-4-vinylphenol	7.127	0.23	
trans-Geranic acid methyl ester	7.234	0.26	
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-meth	7.447	0.33	
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetat	7.858	9.95	Neryl acetate
Geranyl acetate	8.080	5.77	
Caryophyllene	8.496	1.25	
trans-.alpha.-Bergamotene	8.658	0.21	
Humulene	8.915	0.20	
(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbi	9.401	0.16	
.beta.-Bisabolene	9.567	0.36	
(-)-Spathulenol	10.384	0.21	
Caryophyllene oxide	10.423	0.42	
.tau.-Cadinol	11.128	0.14	
.alpha.-Cadinol	11.272	0.11	
8-Decen-2-one, 9-methyl-5-methylene-	11.317	0.09	
.alpha.-Bisabolol	11.640	0.12	
Phytol	15.875	0.12	
	95.35%		

Le tableau de composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de citron est caractérisé par la présence de quatre composés majoritaires: **D-Limonène**, **α -citral**, **Neryl acetate**, **β -Pinene**.

Tableau04: Les produits majoritaires dans l'HE des feuilles de citron

produit	%	Structure chimique
D- Limonène	13.01	
α-citral	11.73	
Neryl acetate	9.95	
β-Pinene	8.00	

trente neuf constituants sont identifiés représentant un total de 95,35 % de cette essence. Cette huile essentielle présente comme composés majoritaires le D-limonène (13.0 %), l' α -citral (11.73 %), le Neryl acetate (9.95 %), le β -Pinene (8.00%)

Conclusion générale

L'objectif visé par ce mémoire de fin d'études est de valoriser les huiles essentielles de citron de la région de fedis Batna pour bénéficier de cette plante aromatique et médicinale dans la pharmacie, la cosmétique, l'industrie alimentaire et la conservation bio.

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de citron, été réalisée par hydrodistillation au laboratoire de recherche de Génie des Procédés, avec un rendement de **1.22%**.

Les propriétés physicochimiques telles que les propriétés organoleptiques, le pH, la densité, l'indice de réfraction et l'indice d'acide sont semblables des huiles essentielles de Citron, en outre sont conformes aux normes AFNOR.

Les huiles essentielles des feuilles de citron sont de bon conservateurs naturels dans l'industrie alimentaire (antioxydant) et aussi antibactérien et Antiseptique.

Nous avons utilisé GC/MS pour confirme la composition chimique de l'huile essentielles étudiée.

Références bibliographiques :

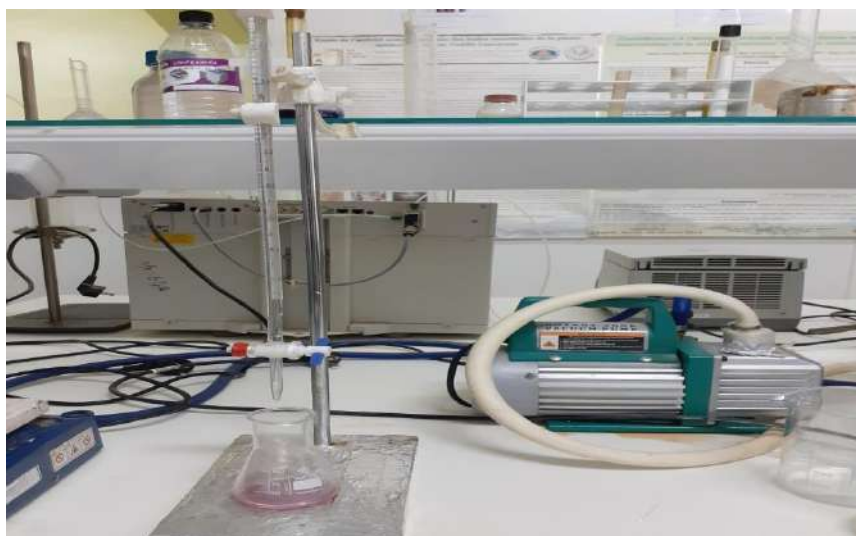
1. **PATRICE DE BONNEVAL** et **FRANK DUBUS**, Manuel pratique d'aromathérapie au quotidien, édition DésIris, paris 2014.
2. **FARNSWORTH, N.R**, Bulletin de l'organisation mondiale de la santé 1986, 64(2):p 159-175
3. **Benchikh salah eddine**. Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum* Labiatae .Thèse de Doctorat. UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA .2017.p4-5-12
4. **Bouguerra M A**. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire [Mémoire de mester].Constantine : Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agroalimentaires ; 2012.p3
5. **M^{em} Henniche houda**.extraction et valorisation des huiles essentielles du Romarin (Algérie) obtenues par différents procédés. Thèse de Doctorat. UNIVARSITE HOUARI BOUMEDIENE.2018.p3
6. BRUNETON J. Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales - (5^o Edition). Lavoisier; 2016.
7. **Hellal Z**. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus [Mémoire de mester]. Application sur la sardine. Université Mouloud Mammeri.2011.p4
8. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales 3e édition ; 1999
9. Teisseire, P.J., *Chimie des substances odorantes*. 1991: Technique et documentation- Lavoisier.
10. Franchomme, P. and D. Penoel, *L'aromathérapie exactement*. Limoges. **1990**.
11. AZALENKO.K, Contribution à la détermination des chemotypes d'une plante à huile essentielle du Togo : *Lippia mutiflora*. Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé. 1995.
12. Mann, J., *Secondary metabolism*. 1987.
13. **Abdelouahid Dj et Bekhechi Ch**. Les huiles essentielles. 2eme Edition. Alger : Office des publications universitaires. 2014.
14. Nadia FEKIH. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trios especes du genre pinus poussant en Algérie. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN.2015.p6
15. **Naouel Ouis**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE D'ORAN 1.2015.p7-8.

- 16. LAURENT Julia.**conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Université paul sabatier toulouse 3. Thèse de Doctorat.2017.p108.
- 17. ROUX D.** Conseil en aromathérapie - 2e édition. Pro-Officina. 2008.
- 18 MOHAMED FAOUZI KASRAOUi,** Le citronier, 2006.
- 19E.BENETEAUD,** Les techniques d'extraction, Comité français du parfum, 2011.
- 20. BENOUALI Djillali.** Extraction et identification des huiles essentielles [Mémoire de mester]. UNIVERSITE D'ORAN.2016 p. 8-9.
- 21. Siham MEFLAH.** Caractérisation des huiles essentielles de citron (Feuilles, et fruit) de la région d'Ouargla [Mémoire de mester].UNIVERSITE D'OUARGLA.2015.p12.
- 22. Bouguerra M A.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires. 2012. p4.
- 23. Qipeng Y.** Improving the antimicrobial activity of D-limonene using a nouvel organogel-based nanoemulsion. Food control [En ligne].2014 oct [consulté le 13/10/2014];1(1): [6 pages]. Disponible sur www.elsevier.com/locate/foodcont.
- 24. KEHAL Farida.** Utilisation de l'huile essentielle de citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraiche. Thèse de Doctorat. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires.2013.p12.
- 25. BEN ADJALI Zineb.** Encapsulation du D-limonène et évaluation de son activité antimicrobienne en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire[Mémoire de mester]. Université Mouloud Mammeri.2016.p22-54
- 26.** Association des Producteurs Algériens de Boissons. Guide des bonnes pratiques d'hygiène. Industrie algérienne des jus de fruits, nectars et produits dérivés. Décembre 2011.
- 27. Azeredo H.M.C., Faria J.A.F. et Dasilva MA.A.P.** (2004). Minimization of peroxyde formation rate in soybean oil by antioxidant combinations. Food Research International, 4, 141-158.
- 28. BOUKHATEM Mohamed Nadjib, HAMAIDI Mohand Said, SAIDI Fairouz et HAKIM Yahia,** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Article de l'Unité de recherche en Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie. (03). 2010.p. 37-45.

Annexes



Huile essentielle des feuilles de citron



Montage de titrage

Composition chimique d'huile essentielle des feuilles de citron

Compound Name	RT	Area %	CAS#
Ethanone, 1-(7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-y	1.226	0.06	15121-01-4
Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-m	1.739	0.07	2867-05-2
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 3,6,6-trimethy	1.828	0.79	4889-83-2
Camphene	2.018	0.09	79-92-5
.beta.-Pinene	2.398	8.00	127-91-3
.beta.-Myrcene	2.510	1.43	123-35-3
3-Carene	2.758	1.39	13466-78-9
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethyl	2.883	0.16	586-62-9
Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethen	3.180	13.01	13898-73-2
.beta.-Ocimene	3.325	2.11	13877-91-3
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 3,6,6-trimethy	3.387	0.04	4889-83-2
.gamma.-Terpinene	3.456	0.47	99-85-4
Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethen	3.629	0.12	7299-41-4
Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethyl	3.759	0.04	586-63-0
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethyl	3.814	0.45	586-62-9
Linalool	4.103	3.28	78-70-6
(2R,4R)-4-Methyl-2-(2-methylprop-1-en-1	4.203	0.03	5258-11-7
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methyl	4.407	0.14	29803-81-4
cis-(-)-1,2-Epoxy-p-menth-8-ene	4.498	0.17	32543-51-4
(+)-(E)-Limonene oxide	4.561	0.11	6909-30-4
6-Octenal, 7-methyl-3-methylene-	4.666	0.39	55050-40-3
6-Octenal, 3,7-dimethyl-, (R)-	4.841	3.33	2385-77-5
Isoneral	4.955	1.21	None
Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl-,	5.123	0.16	4755-33-3
3,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-	5.230	2.17	55722-59-3
Terpineol	5.449	1.60	None
2-Pentadecyn-1-ol	5.583	0.39	2834-00-6
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	5.872	0.70	106-25-2
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	6.181	11.73	141-27-5
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	6.284	6.30	106-26-3
Geraniol	6.385	0.46	106-24-1
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	6.588	5.43	141-27-5
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)-	6.770	11.36	141-27-5
R-Limonene	6.889	0.05	None
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, format	6.957	0.05	2142-94-1
Undecanal	7.071	0.18	112-44-7
2-Methoxy-4-vinylphenol	7.127	0.23	7786-61-0
trans-Geranic acid methyl ester	7.234	0.26	1189-09-9
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-meth	7.447	0.33	491-09-8
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	7.610	0.97	150-84-5
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetat	7.858	9.95	141-12-8
Geranyl acetate	8.080	5.77	105-87-3
Doconexent	8.162	0.03	6217-54-5
Benzaldehyde, 3-hydroxy-4-methoxy-	8.235	0.04	621-59-0
Caryophyllene	8.496	1.25	87-44-5

trans-.alpha.-Bergamotene	8.658	0.21	13474-59-4
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetat	8.845	0.12	141-12-8
Humulene	8.915	0.20	6753-98-6
2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, isobutyrate	8.996	0.13	None
(E)-3,7-Dimethylocta-2,6-dien-1-yl 3-met	9.106	0.15	None
(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3	9.220	0.06	18252-44-3
2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, isobutyrate	9.286	0.06	None
(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbi	9.401	0.16	24703-35-3
cis-.alpha.-Bisabolene	9.477	0.04	29837-07-8
.beta.-Bisabolene	9.567	0.36	495-61-4
1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-he	9.681	0.07	16729-01-4
No Match	9.776	0.04	None
Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylen	10.051	0.03	None
1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethy	10.214	0.07	40716-66-3
(-)-Spathulenol	10.384	0.21	77171-55-2
Caryophyllene oxide	10.423	0.42	1139-30-6
No Match	10.656	0.16	None
(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-	10.735	0.05	19888-34-7
trans-Sesquisabinene hydrate	10.833	0.05	145512-84-1
2-((2S,4aR)-4a,8-Dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6	10.883	0.04	117066-77-0
1,1,4,7-Tetramethyldecahydro-1H-cyclop	11.015	0.07	1212211-43-2
.tau.-Cadinol	11.128	0.14	5937-11-1
.alpha.-Cadinol	11.272	0.11	481-34-5
8-Decen-2-one, 9-methyl-5-methylene-	11.317	0.09	130876-97-0
Menthol, 1'-(butyn-3-one-1-yl)-, (1S,2S,	11.466	0.11	None
.alpha.-Bisabolol	11.640	0.12	515-69-5
2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-	11.871	0.04	19317-11-4
2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-	12.169	0.06	19317-11-4
Pentadecanoic acid	14.517	0.04	1002-84-2
6-Methyl-4,6-bis(4-methylpent-3-en-1-yl)	15.785	0.07	61447-89-0
Phytol	15.875	0.12	150-86-7
2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethy	16.121	0.03	3790-71-4
Dihydronopol	16.691	0.03	None
2-methyloctacosane	22.118	0.03	None